

Aus dem Forschungszentrum der Schering AG., Berlin

STOFFWECHSEL UND STOFFWECHSELWIRKUNG DES
NA⁺-SALZES VON 4-(5-ISOBUTYLPYRIMIDINYL-2)-
SULFAMYLPHENYL-ESSIGSÄURE-3-CHLOR-6-METHOXY-
ANILID (GLIDANIL-NATRIUM) BEIM MENSCHEN NACH
ORALER UND INTRAVENÖSER VERABREICHUNG

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Siegrid Peters geb. Grübler

aus Dresden

1972

STOFFWECHSEL UND STOFFWECHSELWIRKUNG DES
NA⁺-SALZES von 4-(5-ISOBUTYLPYRIMIDINYL-2)-
SULFAMYLPHENYL-ESSIGSÄURE-3-CHLOR-6-METHOXY-
ANILID (GLIDANIL-NATRIUM) BEIM MENSCHEN NACH
ORALER UND INTRAVENÖSER VERABREICHUNG.

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Siegfried Peters geb. Gröbler
Dresden

Referent: Privatdozent Dr. Dr. E. Gerhards

Korreferent: Professor Dr. med. H. Kewitz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 10. August 1972

DEM GEDÄCHTNIS MEINES MANNES

Seite

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

INHALTS - ÜBERSICHT

Seite

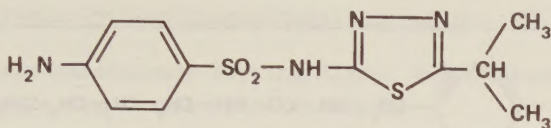
1	1.	<u>Einleitung</u>
15	2.	<u>Versuchsanordnung und Methode</u>
15	2.1	Versuchsanordnung
16	2.2	Methoden, Geräte und Reagentien
20	3.	<u>Ergebnisse</u>
20	3.1	Plasmaanalytik
20	3.1.1	Plasmaanalytik nach oraler Verabreichung von 10 mg [^3H]-Glidanil-Natrium bei Diabetikern
24	3.1.2	Plasmaanalytik nach intravenöser Verabreichung von 6,1 mg [^3H]-Glidanil-Natrium bei gesunden männlichen Probanden
28	3.1.3	Biologische Halbwertszeit und Verteilungsvolumen nach intravenöser Injektion von Glidanil-Natrium
29	3.1.4	Bindung von [^3H]-Glidanil an Eiweiss
30	3.2	Harn- und Stuhlanalytik
30	3.2.1	Gesamtradioaktivität in Harn und Stuhl nach oraler Verabreichung von Glidanil-Natrium
32	3.2.1.1	Differenzierung der radioaktiven Verbindungen im Harn nach oraler Verabreichung von Glidanil-Natrium
34	3.2.2	Gesamtradioaktivität in Harn und Stuhl nach intravenöser Verabreichung von Glidanil-Natrium
36	3.3	Blutzucker, Plasmainsulin und freie Fettsäuren im Serum gesunder Probanden nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung von Glidanil-Natrium
36	3.3.1	Wirkung von Glidanil-Natrium nach oraler Verabreichung
40	3.3.2	Wirkung von Glidanil-Natrium nach intravenöser Verabreichung

Seite

43	4.	<u>Diskussion</u>
52	5.	<u>Zusammenfassung</u>
54	6.	<u>Literatur - Verzeichnis</u>

1. EINLEITUNG

Vor etwa 40 Jahren wurden die ersten Beobachtungen über die Senkung des Blutzuckerspiegels durch Sulfonamide bekannt. 1930 berichteten RUIZ et al. (1) über eine Blutzuckersenkung beim Kaninchen nach oraler und intravenöser Gabe von 4'- und 5'-Methylthioimidazol. Die ersten Mitteilungen über die blutzuckersenkenden Eigenschaften der Sulfonamide beim Menschen gehen auf SAVAGNONE (2) zurück. Beachtung fanden jedoch erst die Untersuchungen von JANBON et al. (3). Sie stellten nach Gabe von p-Aminobenzolsulfonamidoisopropylthiodiazol (IPDT - s. Tafel 1), einem von KIMMIG synthetisierten Sulfonamid, bei typhuskranken Patienten schwere hypoglykämische Zustände fest. Gemeinsam mit LOUBATIÈRES führten Sie in den Jahren 1942 - 1944 tierexperimentelle Untersuchungen mit IPDT durch (4). Sie erkannten, daß die Blutzuckersenkung vom Wirkstoffspiegel im Plasma abhängig ist, daß die Leber vermehrt Glykogen speichert, daß ein blutzuckersenkender Effekt besteht, so lange 1/6 bis 1/10 der Bauchspeicheldrüse vorhanden ist und daß beim pankreatektomierten Tier IPDT nicht wirkt.



2-(p-Aminobenzolsulfonylamino)-4-isopropyl-thiodiazol (IPTD)

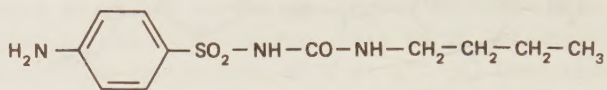
Tafel 1

Aufgrund von Anastomosenexperimenten stellte LOUBATIÈRES 1944 erstmalig die Behauptung auf, daß IPDT die β -Zellen der Langerhans'schen Inseln zur Ausschüttung von Insulin stimuliere. Er verband die Vena pancreatica eines Spender-tieres, welches IPDT erhielt, mit der Vena jugularis des Empfängertieres und beobachtete bei letzterem einen Blutzuckerabfall.

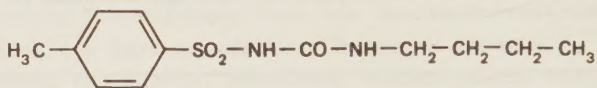
Diese Ergebnisse veranlaßten ihn, IPDT zur Behandlung bestimmter Formen der Zuckerkrankheit beim Menschen anzuwenden.

Jedoch erst 1955, nach den Veröffentlichungen von FRANKE u. FUCHS (5), die mit Carbutamid (N_1 -Sulfanilyl- N_2 -butylcarbamid) entsprechende Wirkung erzielen konnten wie LOUBATIÈRES mit IPDT, kam es zu einer breiteren Anwendung der Sulfonylharnstoffe in der Diabetes-Therapie.

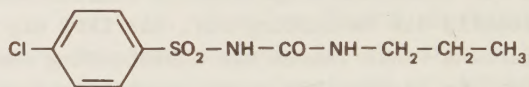
Kurz danach berichteten STÖTTER (6) über die klinischen, CREUTZFELDT u. BÖTTCHER (7) über die experimentellen Ergebnisse mit dem blutzuckersenkenden Wirkstoff Tolbutamid (N-(4-methylbenzolsulfonyl-N'-butylcarbamid). Tolbutamid zeigte gegenüber dem Carbutamid keinen bakteriostatischen Effekt sowie geringere Nebenwirkungen. Später wurden noch weitere Verbindungen in die Therapie eingeführt, so Chlorpropamid und Metahexamid (s. Tafel 2).



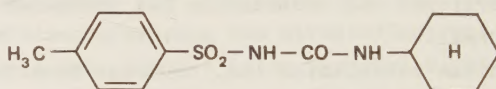
Carbutamid



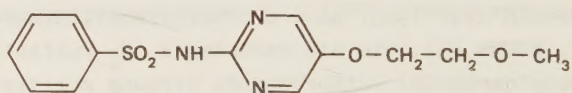
Tolbutamid



Chlorpropamid



Metahexamid

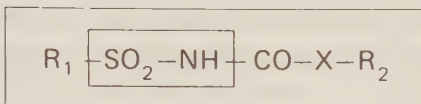


Glymidin

Tafel 2

1964 gesellte sich ein weiteres Sulfonamid mit blutzuckersenkender Wirkung hinzu, Glymidin-Na (2-Benzol-sulfonylamino-5(β -methoxy-äthoxy)-pyrimidin) (8, 9)

Die blutzuckersenkende Wirkung dieser Verbindungen ist an folgende Strukturmerkmale geknüpft:



Von entscheidender Bedeutung ist dabei die SO_2 -NH-Gruppierung. Der doppelt gebundene Sauerstoff der Carbonylgruppe kann wie im Glymidin durch Ringstickstoff ersetzt werden. X kann Sauerstoff oder Stickstoff sein. R_1 muß ein Rest mit mehr als 2 C-Atomen, R_2 mit mehr als einem C-Atom sein, damit die blutzuckersenkende Wirkung erhalten bleibt. Abgesehen von dieser Forderung können R_1 und R_2 im weitesten Sinne variiert werden. Dies findet seine Bestätigung darin, daß in dieser Stoffgruppe mehr als 1.000 blutzuckersenkende Verbindungen synthetisiert wurden, die alle die Insulinsekretion zu stimulieren vermögen.

Man ist zwar heute der Ansicht, daß oral wirksame Antidiabetika vom Sulfonylharnstofftyp die Insulinsekretion der β -Zellen stimulieren (4, 10, 11, 12, 13) und dadurch zur Blutzuckersenkung führen - darin liegt auch die breite therapeutische Nutzung begründet - jedoch wird seit den Untersuchungen von LOUBATIÈRES noch immer über den Mechanismus der Freisetzung des Insulins aus der β -Zelle sowie über extrapankreatische Angriffspunkte der β -cytotropen oralen Antidiabetika diskutiert.

Der von LOUBATIÈRES beobachtete β -cytotrope Effekt wurde nach Vorliegen der klinischen Befunde von FRANKE u.

FUCHS (5) sowohl für Carbutamid als auch für Tolbutamid und später für andere Sulfonamide am Hund (14, 15, 16, 17, 18), an der Katze (19), an der Ratte (20), an der

Kröte (18) bestätigt. CREUTZFELDT u. BÖTTCHER (7) begründeten den β -cytotropen Effekt mit der histologisch feststellbaren Degranulierung der β -Zellen, BÄNDER (21) mit einer Abnahme des Insulingehaltes der Bauchspeicheldrüse und einer vermehrten Insulinausschüttung. Letztere wurde in vivo durch eine Erhöhung der Insulinkonzentration im Serum des peripheren Venenblutes und des Pankreasvenenblutes (21, 22, 23, 24), in vitro an Pankreasschnitten (25, 26), an isolierten Inseln (27, 28, 29) sowie am isoliert perfundierten Pankreas (30, 31) durch eine Steigerung der Insulinsekretion nachgewiesen.

Von besonderer Bedeutung für die Insulinfreisetzung soll die intrazelluläre Konzentration des cyclischen Adenosin- 3', 5'-monophosphats (c-3', 5'-AMP) sein. Diese Substanz vermittelt in den Inseln, ähnlich wie in zahlreichen anderen Geweben, als "second messenger" die Wirkung einer Reihe von Hormonen (32). 3', 5'-AMP wird mit Hilfe der Adenyl-Cyclase gebildet und durch eine 3', 5'-AMP-Phosphodiesterase zu 5'-AMP hydrolysiert. Viele in vivo- und in vitro-Untersuchungen haben gezeigt, daß Hormone und Pharmaka, die über eine Aktivierung der Adenyl-Cyclase oder Aktivitätsabnahme der 3', 5'-Phosphodiesterase einen Konzentrationsanstieg des cyclischen Nucleotids hervorrufen, entweder direkt zu einer Steigerung der Insulinabgabe führen oder die durch Glucose stimulierte Insulininkretion erhöhen (25, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43).

Untersuchungen über eine Beteiligung des Adenylcyclase-3', 5'-AMP-Systems an der insulinfreisetzenden Wirkung β -cytotroper Sulfonamide zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Eine Potenzierung des Tolbutamideffektes durch Coffein in vitro (42, 44) und eine Abschwächung durch β -Rezeptorenblocker in vivo (45, 46) sprechen für eine

Beeinflussung. Die Untersuchungsergebnisse mit Diazoxid, einem nicht diuretisch wirkenden Benzothiadiazinderivat, sprechen dagegen, da es die durch Glucose, Isoproterenol, Glucagon und Theophyllin stimulierte Insulinsekretion unterbricht (47, 48, 50, 51), nicht jedoch den Effekt von Tolbutamid (31, 23).

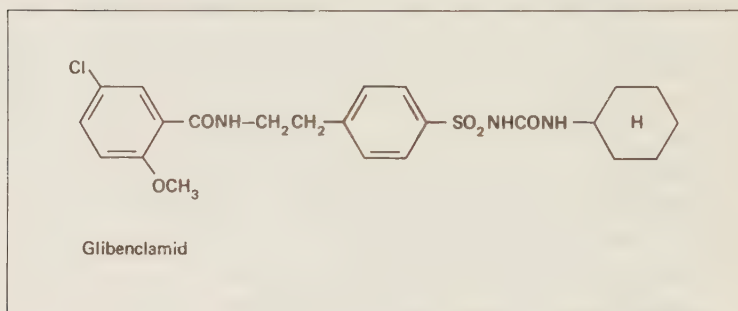
Nach RANDLE (12) und FIELD (13) soll Glucose oder ein in den β -Zellen gebildeter Metabolit der Glucose der physiologische "Insulin Releaser" sein. Insulin durchläuft von der Bildung des Proinsulins in den Ribosomen des endoplasmatischen Retikulums auf dem Weg bis zur Zellwand mehrere Zustandsformen (52).

Glucose soll unter physiologischen Bedingungen einmal über einen "Releaser" den Insulintransport zur Zellwand und zweitens direkt über den gleichen oder einen anderen "Releaser" den Durchtritt des Insulins durch die Zellwand steuern. Nach den Untersuchungen von GERHARDS (62) über die Stoffwechselwirkungen des Glymidins ist anzunehmen, daß Glymidin im Gegensatz zur Glucose direkt nur den Durchtritt des Insulins durch die Zellwand stimuliert, nicht aber den Insulintransport zur Zellwand. Das sezernierte Insulin gelangt über die Pfortader in die Leber, hemmt hier den Glukose-output (14, 21, 11, 54, 55) und führt so zu dem von den Autoren festgestellten initialen Blutzuckerabfall. Konzentrationsunterschiede des Insulins in der Pfortader und in der Vena hepatica sind durch den etwa 50%igen Abbau desselben in der Leber bedingt (56). Aufgrund von in vitro-Versuchen vermutete MIRSKY (56) eine Hemmung der Insulinase durch Sulfonilharnstoffe. Dies konnte aber bei in vivo-Versuchen nicht bestätigt werden (57, 58, 59, 60, 61).

Die schon von LOUBATIERES experimentell festgestellte Beobachtung, daß blutzuckersenkende Sulfonamide beim pankreatektomierten Tier wirkungslos sind, gilt auch

heute noch. Blutzuckersenkende Sulfonamide können klinisch nur dann angewandt werden, wenn die β -Zellen zumindest teilweise noch in der Lage sind, Insulin zu produzieren und zu sezernieren. Sie sind somit nur zur Behandlung des sogenannten Altersdiabetes geeignet, nicht aber zur Therapie des juvenilen Diabetes (68, 69).

1969 wurde Glibenclamid, chemisch ein Sulfonylharnstoff, N-4-[2-(5-Chlor-2-methoxybenzamido)-äthyl]-phenylsulfonyl-N'-cyclohexylharnstoff in die Therapie des Altersdiabetes eingeführt (s. Tafel 3).

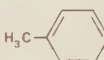
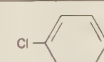
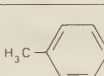
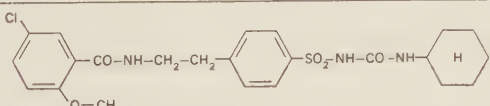


Tafel 3

Auch die Wirkung des Glibenclamid beruht im wesentlichen auf einer Stimulation der Insulinsekretion. Es ist eine β -cytotrope Substanz, die gegenüber Tolbutamid eine 200-fach stärkere Wirkung aufweist und zur Erreichung des gleichen blutzuckersenkenden Effektes entsprechend niedriger dosiert wird (70). Jedoch werden in vivo wie in vitro keine absolut höheren Insulinkonzentrationen gemessen als unter Verabreichung anderer antidiabetisch wirksamer Sulfonamide (71, 72, 73, 74).

Nur bei stoffwechselgesunden, nicht aber bei diabetischen Tieren, korrespondiert der Abfall der freien Fettsäuren im Serum mit der Blutzuckersenkung (75). Nach FAULHABER et al. (76) entfaltet Glibenclamid an der isolierten menschlichen Fettzelle einen deutlichen antilipolytischen Effekt. Aus den Untersuchungsergebnissen wird der Schluß gezogen, daß der Angriffspunkt der Sulfonylharnstoffe an der Fettzelle direkt am Cyclase-System zu suchen ist.

Einige der heute in Klinik und Praxis eingesetzten β -cytotropen oralen Antidiabetica und deren durchschnittliche tägliche Dosierung sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt (8, 9, 11, 64, 66, 67, 70, 73, 79, 91, 92, 93, 94):

Generic name	Handelsnamen	Chem. Bezeichnung + Formel	Dosierung/die
Carbutamid	Nadisan Invenol	 N-Sulfanilyl-N'-n butylharnstoff	0,5 - 1,5 g
Tolbutamid	Rastinon Artosin	 N-p-tolylsulfonyl-N'-n butylharnstoff	0,5 - 2,0 g
Chlorpropamid	Chloronose Diabetoral	 N-(Chlor-4'-benzolsulfonyl)-N'-propylharnstoff	0,125- 0,75 g
Tolazamid	Norglycin	 N-p-tolylsulfonyl-N'-(hexahydro-1-4-azopinyll)-harnstoff	0,05-0,5 g
Glymidin	Redul	 2-Benzolsulfonylamino-5-(β -Methoxy-äthoxy)-pyrimidin	0,5 - 2,0 g
Glibenclamid	Euglucon 5	 N-4-[2-(5-Chlor-2-methoxybenzamido)-äthyl]-phenyl-sulfonyl-N'-cyclohexylharnstoff	0,0025- 0,02 g

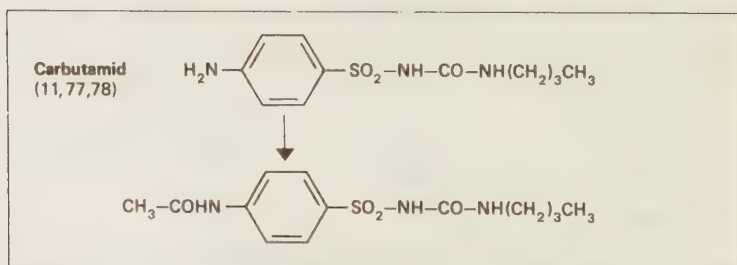
Tafel 4

Für die genannten Verbindungen sind nachfolgende Ergebnisse von Stoffwechseluntersuchungen am Menschen bekannt (9, 53, 61, 64, 65, 66, 67, 70, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95, 101):

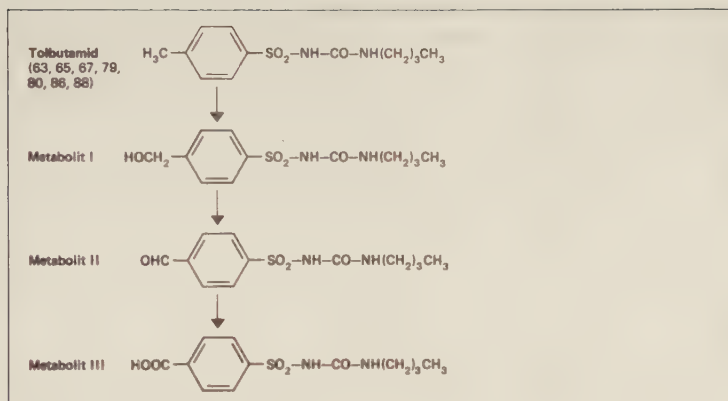
Name	Halbwertszeit	Bindung an Plasmaproteine in %	Verteilungsraum in Ltr.
Carbutamid	40 h (68-9)	50 - 60	7 - 11
Tolbutamid	3 - 8 h	40 - 50	13
Chlorpropamid	Fraktion I 80 % 35 h Fraktion II 16 Tg.	4,35 (6,96)	10 - 13
Tolazamid	7 h	—	—
Glymidin	4 h	80	16,7
Glibenclamid	5 - 7 h	97	7,9

Tafel 5

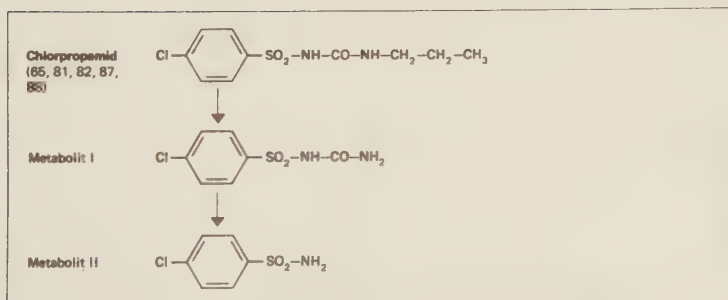
Die wichtigsten Metaboliten der vorgenannten oralen Antidiabetica:



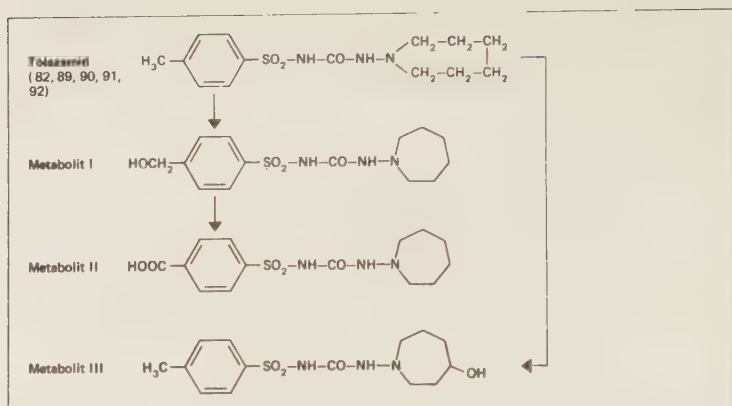
Tafel 6



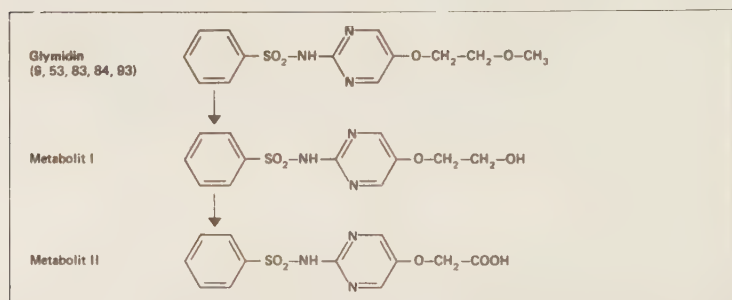
Tafel 7



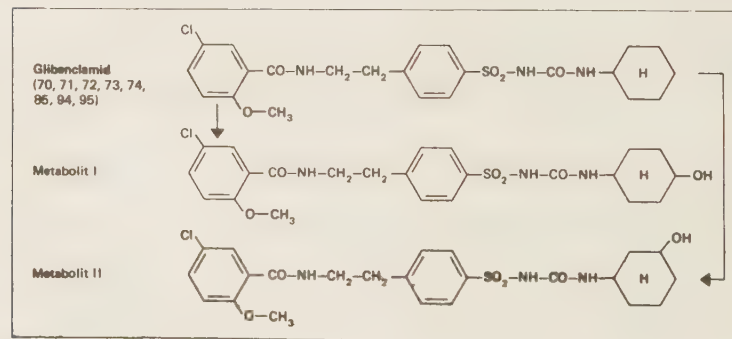
Tafel 8



Tafel 9

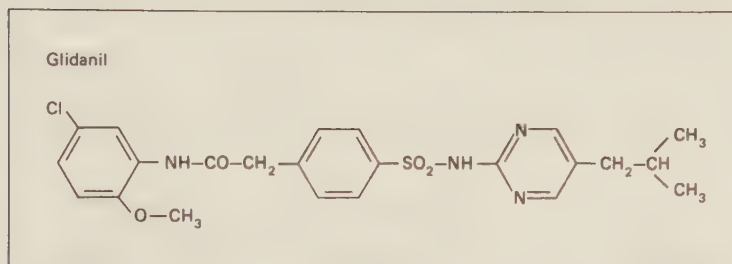


Tafel 10



Tafel 11

In den Forschungslaboratorien der Schering AG wurde eine β -cytotrope Verbindung synthetisiert, die gegenüber dem Tolbutamid und Glymidin-Natrium tierexperimentell und in ersten Untersuchungen am Menschen eine erhebliche Wirkungssteigerung aufwies. Es handelt sich um das Glidanil-Natrium, ein 4-(5-Isobutylpyrimidinyl-2)-sulfamylphenyl-essigsäure-3-chlor-6-methoxy-anilid, (s. Tafel 12).



Tafel 12

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Pharmakokinetik, den Stoffwechsel und die β -cytotrope Wirkung des Glidanil-Natriums am Menschen zu untersuchen.

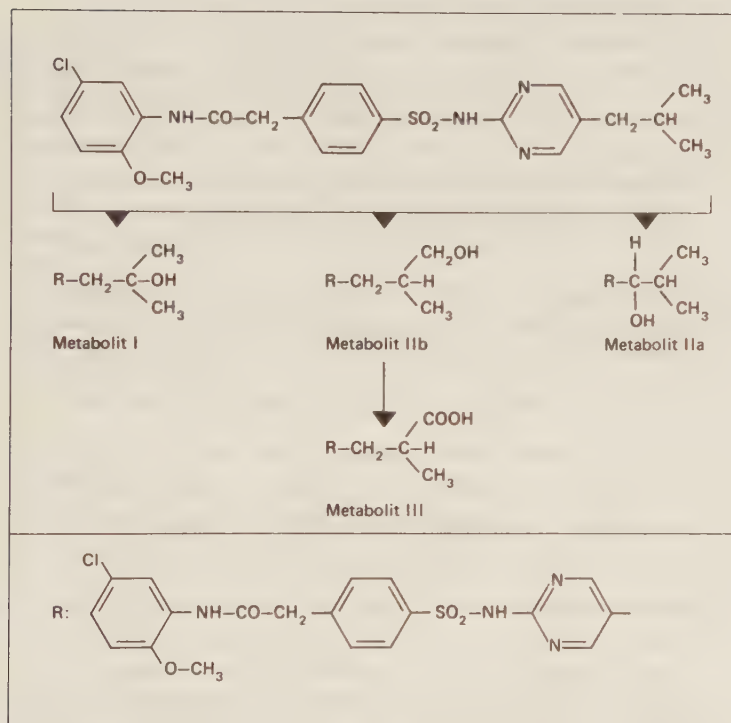
Um erste Angaben zum Dosierungsintervall zu erhalten, waren genaue Angaben über das Verhalten der Verbindung im Organismus notwendig. Über die Gesamtbilanz hinaus war die quantitative Bestimmung der unveränderten Verbindung und ihrer Metabolite im Plasma erforderlich.

Es wurden folgende Untersuchungen vorgenommen:

1. Bestimmung der Gesamtradioaktivität und des Anteils an unverändertem Glidanil im Plasma nach oraler und i.v.-Applikation von [^3H]-markiertem Glidanil.

2. Bestimmung der prozentualen Verteilung der im Plasma gemessenen Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität auf unverändertes Glidanil und seine Metabolite nach oraler und i.v.-Applikation von Glidanil-Natrium.
3. Bestimmung der biologischen Halbwertszeit des unveränderten Glidanil-Natriums und des relativen Verteilungsvolumens nach i.v.-Applikation von Glidanil-Natrium.
4. Bestimmung der Eiweißbindung von Glidanil mit Humanplasma.
5. Bestimmung der Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn und Stuhl nach oraler und intravenöser Verabreichung von Glidanil-Natrium.
6. Chromatographische Differenzierung und quantitative Bestimmung der im Plasma und Harn auftretenden radioaktiven Verbindungen nach oraler Applikation.
7. Bestimmung des Blutzuckers, der Konzentration des Insulins und der freien Fettsäuren im Plasma bzw. Serum in Abhängigkeit von der Glidanil-Konzentration im Plasma nach oraler und intravenöser Verabreichung.

Nach unveröffentlichten Untersuchungen von Gerhards et al. (99) wird Glidanil beim Menschen nach folgendem Schema metabolisiert:



Tafel 13

Die Metabolite I, IIb und III wurden aus dem Harn isoliert, kristallisiert und physikalisch chemisch identifiziert.

2.

VERSUCHSANORDNUNG UND METHODEN

2.1

VERSUCHSANORDNUNG

Die Kinetik des $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natriums wurde an drei diabetischen und sechs gesunden Probanden untersucht (Tafel 14).

Proband	Alter in Jahren	Größe in cm	Gewicht in kg	Alters-diabetes	gesund	$[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na
1. Be ♀	72	164	68	+		10 mg p.o.
2. Br ♀	66	157	61	+		10 mg p.o.
3. Ru ♀	73	153	48	+		10 mg p.o.
4. Ni ♂	29	176	73		+	10 mg p.o.
5. Qu ♀	28	174	70		+	10 mg p.o.
6. We ♀	27	167	60		+	10 mg p.o.
7. Fr ♂	27	173	72		+	6.1 mg i.v.
8. Ha ♂	30	175	78		+	6.1 mg i.v.
9. Ke ♂	25	172	61		+	6.1 mg i.v.

Tafel 14

Für die orale Verabreichung wurde das $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium unter mehrmaliger Zugabe einiger Tropfen Aceton 15 Minuten im Achatmörser intensiv verrieben, danach über P_2O_5 getrocknet und in Gelatinekapseln eingewogen.

Für die intravenöse Injektion wurden 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium gelöst in jeweils 5 ml Äthanol in Ampullen überführt. Die äthanolische Lösung wurde in der Ampulle unter Stickstoff zur Trockne gebracht und der Trockenrückstand unter Stickstoff in 6 ml physiologische Kochsalzlösung aufgenommen (die physiologische Kochsalzlösung war mit Natronlauge auf pH 8.5 eingestellt). Nach Abschmelzen wurden die Ampullen zur Sterilisation 45 Min. bei 120°C gehalten. In Vorversuchen war gezeigt worden, daß Glidanil-Natrium unter diesen Bedingungen nicht verändert wird.

In allen Versuchen wurde im Plasma neben der Gesamt-radioaktivität durch chromatographische Differenzierung der Anteil an unverändertem Glidanil quantitativ bestimmt, in den Versuchen 1-3 und 7-9 zusätzlich die radioaktiven Metabolite.

In den Versuchen 1-3 und 7-9 wurde die Gesamt-[³H]-Elimination über Harn und Stuhl sowie die prozentuale Verteilung der im Harn ausgeschiedenen radioaktiven Metabolite bestimmt.

Untersuchungen zur Korrelation der Glidanil-Konzentration im Plasma mit dem Verlauf des Blutzuckers sowie des Insulins und der freien Fettsäuren im Plasma bzw. im Serum wurden an nüchternen Probanden in den Versuchen 4-9 durchgeführt.

Zu den bei den einzelnen Versuchen angegebenen Zeiten wurden 10 ml Blut über die Vena cubitalis entnommen und heparinisiert.

Harn und Stuhl wurden bis zur Aufarbeitung bei -20° C gehalten.

.2 METHODEN, GERÄTE UND REAGENTIEN

Es wurden chemisch reine Lösungsmittel destilliert oder p.a.-Lösungsmittel der Fa. E. Merck AG., Darmstadt, verwendet.

Silicagel HF-254; E.Merck AG., Darmstadt.

2,5-Diphenyloxazol (PPO) und 1,4-Di-[5'-phenyloxazol-2'-yl]-benzol (POPOP); Packard Instruments Co., Illinois.

p-Terphenyl für die Szintillationsmessung; E.Merck AG., Darmstadt.

Naphthalin, reinst, sublimiert; Riedel de Haen, Seelze.

Radioaktivitätsmessung:

- a. in Lösung mit dem Szintillations-Spektrometer,
Modell 3375; Packard Instruments, Illinois.

Szintillationslösung 1: 100 g Naphthalin, 10 g PPO
und 2.5 g POPOP in 1 Liter Dioxan, reinst.

Szintillationslösung 2: 4 g p-Terphenyl, 50 mg POPOP
in 1 Liter Toluol p.a.
- b. auf Dünnschichtplatten mit dem Dünnschicht-Scanner,
Modell LB 2721; Fa. Berthold, Wildbad.
- c. nach Dünnschichtchromatographie in Lösung:
Das Kieselgel wurde in 1 cm breiten Streifen abge-
schabt, in Meßgefäße überführt und mit 2 ml Methanol
p.a. und 18 ml Szintillationslösung 1 versetzt.
Messung wie unter a. beschrieben.
- d. in Plasma und Harn: 0.2 ml wurden mit 2 ml Methanol
p.a. und 18 ml Szintillationslösung 1 versetzt.
Messung wie unter a. beschrieben.
- e. im Stuhl nach Gefriertrocknung und Verbrennung im
Packard Tri Carb Sample Oxidizer.

Extraktion:

- a. aus Plasma: 0.5 ml Plasma wurden mit 0.5 ml Wasser
verdünnt und mit 2 ml 0.2 n Phosphorsäure versetzt,
so daß der pH-Wert etwa 2.5 betrug. Anschließend
wurde dreimal mit 5 ml Essigester extrahiert. Die
vereinigten Extrakte wurden 1 Std. bei -20°C gehalten
und dekantiert. Das dabei in geringer Menge auftre-
tende Sediment wurde mit kaltem Essigester nachextra-
hiert, die vereinigten Extrakte bei 40°C am Rota-
tionsverdampfer zur Trockne gebracht.

- b. aus Harn: Der Harn wurde mit 85 %iger Phosphorsäure auf pH 5 eingestellt und dreimal mit gleichem Volumen Essigester extrahiert. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wurden die vereinigten Extrakte am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Dünnschichtchromatographie (DC):

Zur Auftrennung der radioaktiven Verbindungen aus Plasma und Harn wurde auf 20 x 55 cm großen Glasplatten mit einer Schichtdicke von 0,5 mm aufsteigend chromatographiert.

DC-System I: Ammoncarbonatpuffer/Dioxan 1:3 (v/v)
(72,4 g Ammoncarbonat in 1 Liter
3 n Ammoniumhydroxydlösung)

DC-System II: Essigester/Toluol/Eisessig 68:30:2 (v/v)

Messung der Bindung von $[\text{}^3\text{H}]$ -Glidanil an Plasmaproteine:
Es wurde eine leicht modifizierte Dialysezelle verwendet, wie sie von Neuhoff und Kiehl (102) entwickelt wurde.

Dialysemembran: Cuprophane Membranes, Technicon Ltd.,
Part No. 105-105 g

1 ml heparinisertes Plasma wurde 24 Std. bei 22° C gegen 1 ml physiologische Kochsalzlösung, die mit 0,01 n NaOH auf pH 8,0 eingestellt war, dialysiert. Das radioaktive Glidanil-Natrium wurde der Kochsalzlösung in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Zum Ausschluß des CO_2 der Luft wurde unter Stickstoff gearbeitet. Nach Abschluß der Dialyse erfolgte die Radioaktivitätsmessung in 0,1 ml Plasma bzw. Kochsalzlösung. Der Anteil des Proteingebundenen Glidanil (A_{geb}) ergab sich aus:

$$\begin{aligned} A_{\text{pl}} &= A_{\text{geb}} + A_{\text{fr}} \\ A_{\text{geb}} &= A_{\text{pl}} - A_{\text{fr}} \end{aligned}$$

wobei A_{pl} = Radioaktivität in 0,1 ml Plasma

und A_{fr} = Radioaktivität des nicht gebundenen, freien Glidanils in 0,1 ml der Kochsalzlösung.

Blutzuckerbestimmung:

nach der Glukoseoxidase-Methode (Testkombination GOD der
Fa. Boehringer, Mannheim).

Insulinbestimmung:

nach Hales und Randle Immuno Assay Kit
(The Radiochemical Centre, Amersham, England).

Bestimmung der freien Fettsäuren im Serum:

nach Duncombe, W.C. (103).

3.

ERGEBNISSE

3.1

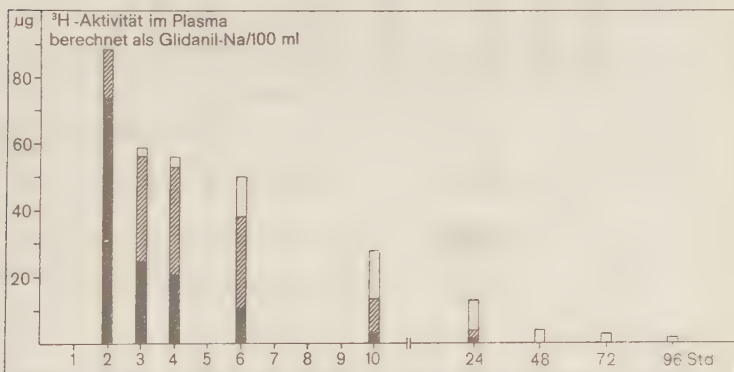
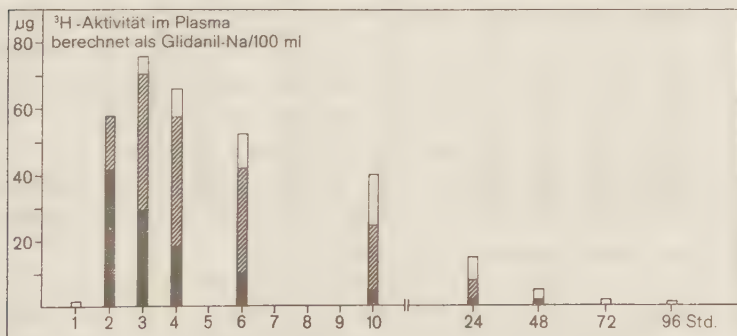
PLASMAANALYTIK

3.1.1

Plasmaanalytik nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium bei Diabetikern

Drei weibliche diabetische Probanden (Be, Br u. Ru) erhielten oral 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium mit 20 mg Milchzucker in Gelatinekapiteln.

Die Abb. 1a - c zeigen die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität sowie den Anteil an unveränderter Verbindung im Plasma.

Abb. 1a (Be)Abb. 1b (Br)

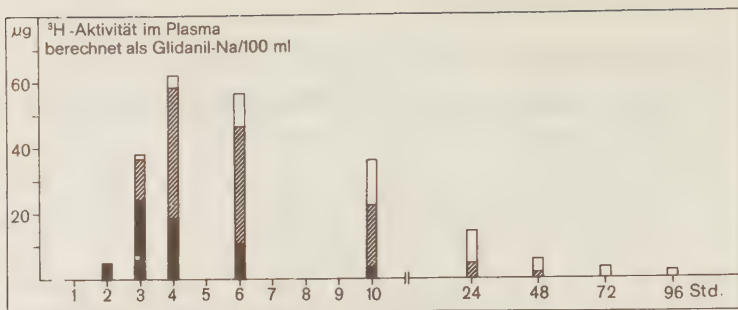


Abb. 1c (Ru)

Abb. 1a - c: Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität und unveränderte Verbindung im Plasma nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium



: Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität



: Unveränderte Verbindung



: Metabolit I

Die maximale $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma stellte sich 2 bis 4 Stunden nach der Verabreichung des $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natriums ein und betrug - berechnet als Glidanil-Natrium ca. 60 - 90 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Die $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma war in den ersten 6 Stunden nach der Verabreichung zu ca. 100 % frei extrahierbar, danach zu ca. 95 %.

Die maximale Konzentration an unverändertem Glidanil-Natrium lag zwischen ca. 25 und 75 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma. Sie nahm rasch ab und betrug 10 Std. nach der Verabreichung weniger als 5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

Die prozentuale Verteilung der zu den verschiedenen Zeiten im Plasma gemessenen $[^3\text{H}]$ -Aktivität auf unverändertes Glidanil und die Metabolite I, II und III ist in den Abb. 2a - c wiedergegeben. (II = IIa + IIb).

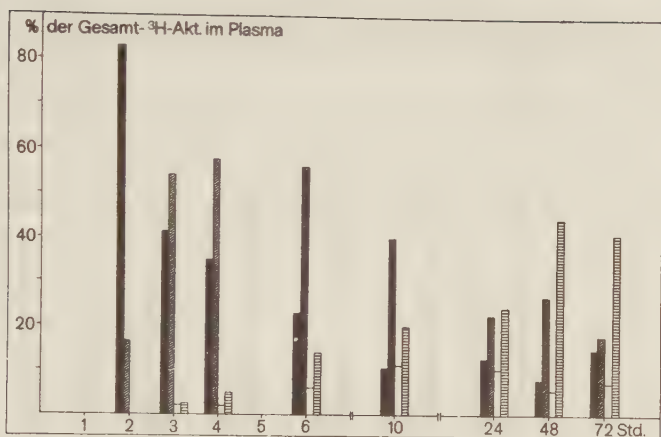


Abb. 2a (Be)

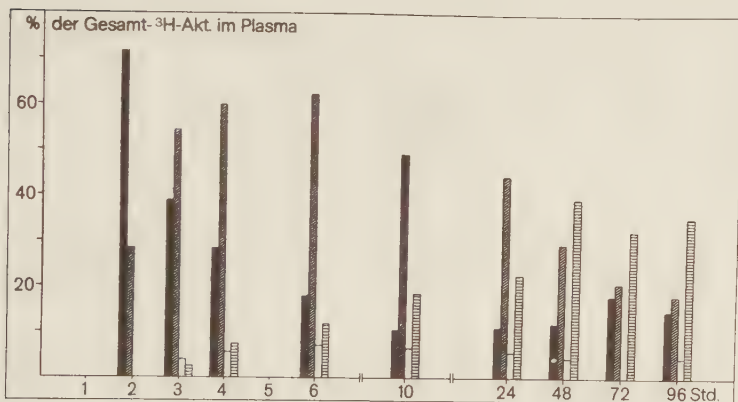


Abb. 2b (Br)

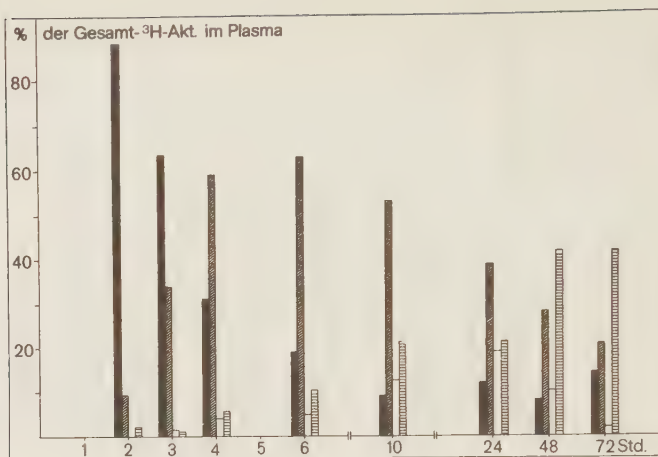


Abb. 2c (Ru)

Abb. 2a - c: Prozentuale Verteilung der Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma auf Glidanil und seine Metabolite nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na.

	: Glidanil	$R_s = 1$
	: Metabolit I	$R_s = 0.87$
	: Metabolit II	$R_s = 0.72$
	: Metabolit III	$R_s = 0.47$

Die R_s -Werte beziehen sich auf DC-System I

Der prozentualen Abnahme der unveränderten Verbindung entsprach in den ersten 6 Stunden vorwiegend die prozentuale Zunahme des Metaboliten I.

Danach verschob sich die prozentuale Verteilung der $[^3\text{H}]$ -Aktivität zunehmend zugunsten des Metaboliten III.

Plasmaanalytik nach intravenöser Verabreichung von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium bei gesunden männlichen Probanden

Drei gesunde männliche Probanden (Fr, Ha, Ke) erhielten intravenös 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na, gelöst in 5 ml physiol. Kochsalzlösung (pH 8.5). Die Abb. 3a-c zeigen die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität sowie den Anteil an unveränderter Verbindung im Plasma.

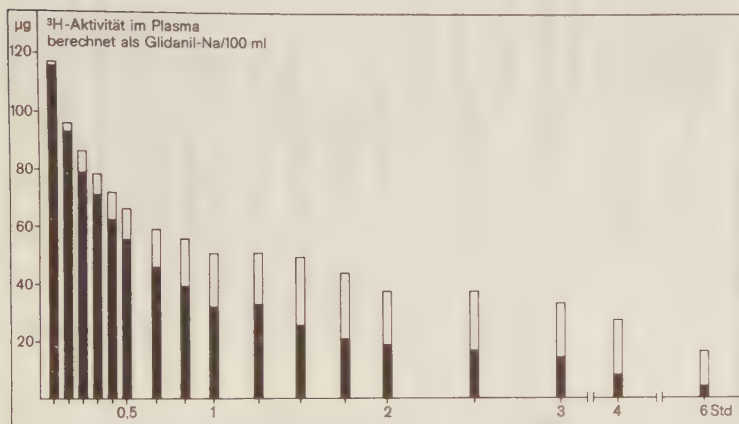


Abb. 3a (Fr)

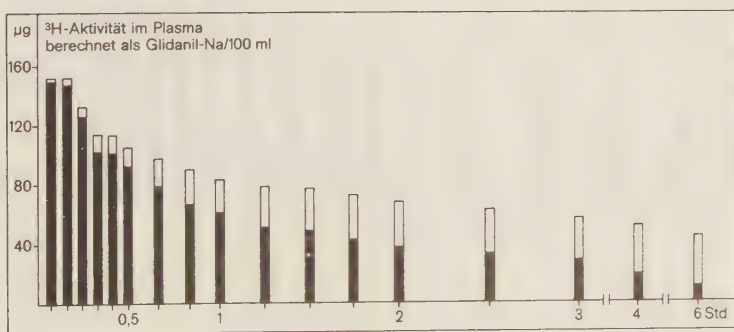


Abb. 3b (Ha)

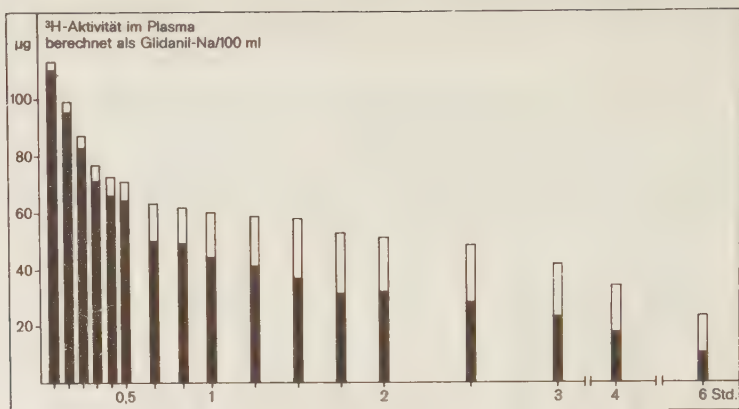


Abb. 3c (Ke)

Abb. 3a - c: Gesamt- ^3H -Aktivität und unveränderte Verbindung im Plasma nach intravenöser Injektion von 6.1 mg ^3H -Glidanil-Natrium.

 : Gesamt- ^3H -Aktivität
 : unveränderte Verbindung

Die prozentuale Verteilung der im Plasma gemessenen Gesamt- ^3H -Aktivität auf unverändertes Glidanil und seine Metabolite nach intravenöser Injektion von Glidanil-Natrium ist in den Abb. 4a-c wiedergegeben.

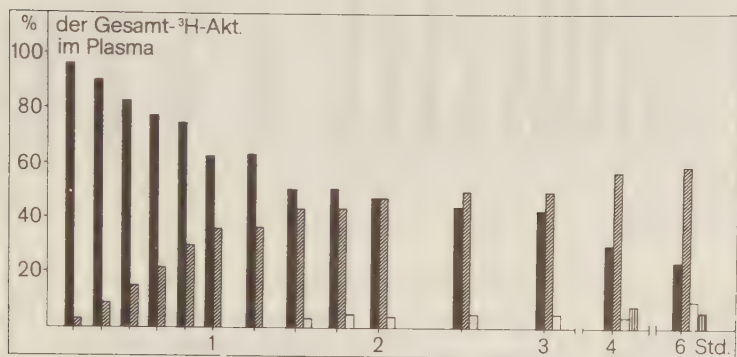


Abb. 4a (Fr)

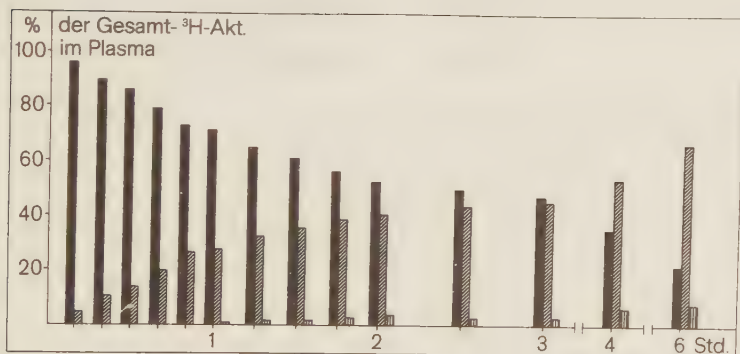


Abb. 4b (Ha)

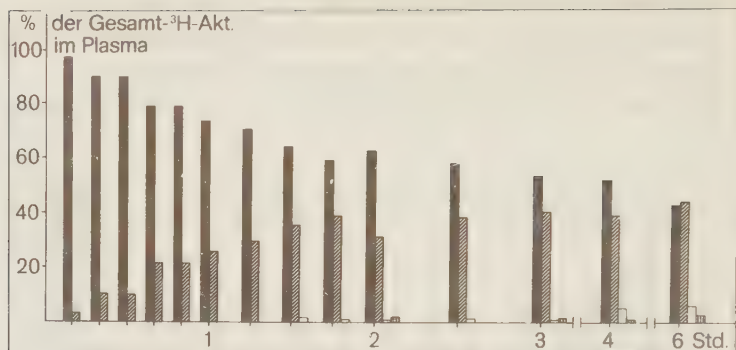


Abb. 4c (Ke)

Abb. 4a - c: Prozentuale Verteilung der Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma auf Glidanil und seine Metabolite nach intravenöser Injektion von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

-  : Glidanil
-  : Metabolit I
-  : Metabolit II (IIa + IIb)
-  : Metabolit III

3.1.3

Biologische Halbwertszeit und Verteilungsvolumen
nach intravenöser Injektion von Glidanil-Natrium

Durch halblogarithmische Darstellung der in den Abb. 3a-c wiedergegebenen Ergebnisse wurde für die Gesamtradioaktivität sowie für das unveränderte Glidanil-Natrium die Halbwertszeit im Plasma graphisch bestimmt. Nach Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes zwischen intra- und extravasalem Raum stellte sich für die Gesamtradioaktivität im Plasma in den ersten 6 Stunden eine Halbwertszeit von etwa 3-5 Stunden ein. Die Konzentration des unveränderten Glidanils im Plasma nahm in den ersten 6 Stunden mit einer Halbwertszeit von etwa 2 - 2 1/2 Std. ab (Tab. 1).

Probanden	Halbwertszeit		Relat. Vert. Vol. in Ltr.
	Glidanil-Na	Gesamt-[³ H]-Akt.	
Fr	1 ^h 45'	3 ^h 10'	133
Ha	2 ^h 5'	5 ^h 10'	88
Ke	2 ^h 30'	3 ^h 50'	115

Tab. 1

Tab. 1:

Relatives Verteilungsvolumen und Halbwertszeit der Gesamt-[³H]-Aktivität sowie des unveränderten Glidanil-Natriums im Plasma in den ersten 6 Stunden nach i.v. Injektion von 6.1 mg Glidanil-Natrium.

Bindung von $[^3\text{H}]$ -Glidanil an Eiweiß

Die Eiweißbindung von Glidanil an Humanplasma wurde in einer modifizierten Dialysezelle nach Neuhoﬀ und Kiehl (102) bestimmt.

Nach Abb. 5 waren bis zu einer Konzentration von 3.2 mg Glidanil-Na pro ml Plasma über 99 % der $[^3\text{H}]$ -Aktivität an Protein gebunden. Wenn man annimmt, daß Glidanil im Plasma nur an Albumin gebunden wird, ergibt sich, daß bei der höchsten Konzentration pro 10 Molen Albumin nur 1 Mol Glidanil gebunden ist.

Bei der therapeutisch zu erwartenden Glidanil-Konzentration von maximal etwa 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma würde auf jedes vierhundertste Albuminmolekül nur ein Molekül Glidanil entfallen.

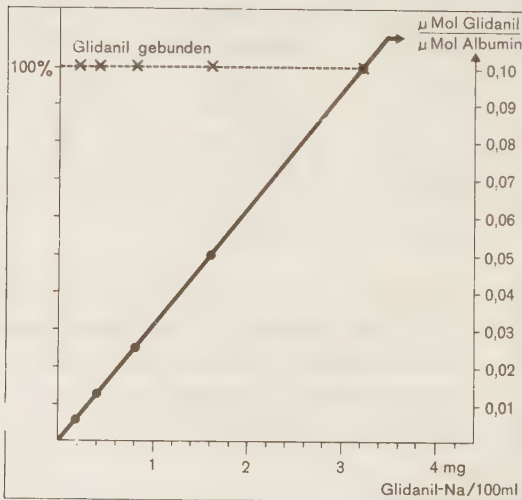


Abb. 5: Bindung von Glidanil an Humanplasma, angegeben in Prozent sowie in $\mu\text{Mol}/\mu\text{Mol}$ Albumin, in Abhängigkeit von der Konzentration an Glidanil-Natrium im Plasma.

3.2

HARN- UND STUHLANALYTIK

3.2.1

Gesamtradioaktivität in Harn und Stuhl nach oraler Verabreichung von Glidanil-Natrium

Abb. 6 zeigt die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

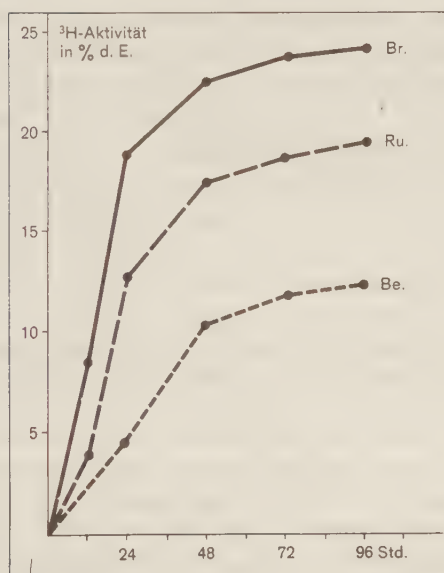


Abb. 6: Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn der Probanden Be, Br und Ru nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

In Tab. 2 ist die Elimination der $[^3\text{H}]$ -Aktivität über Harn und Stuhl nach oraler Verabreichung von 10 mg Glidanil-Natrium angegeben.

Zeit nach Verabreichg. Std.	$[^3\text{H}]$ -Aktivität in % der Eingabe					
	Proband Be		Proband Br		Proband Ru	
	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl
0 - 24	4.5	—*	18.9	15.9	12.7	4.5
24 - 48	5.8	—*	3.6	50.2	4.8	—**
48 - 72	1.6	60.4	1.1	—*	1.4	—**
72 - 96	0.5	27.5	0.2	11.7	0.5	—**
0 - 96	12.4	87.9	23.8	77.8	19.4	
Harn + Stuhl 0 - 96	100.3		101.6			
—* kein Stuhl, —** nicht gesammelt						

Tab. 2

Tab. 2: $[^3\text{H}]$ -Aktivität in Harn und Stuhl nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

Nach Tab. 2 wurden von den 3 diabetischen Probanden zwischen 12 und 24 % der oral verabreichten $[^3\text{H}]$ -Aktivität mit dem Harn ausgeschieden. Die restliche Radioaktivität (78-88 % der Eingabe) wurde bei den Probanden Be und Br mit dem Stuhl eliminiert. Bei Proband Ru konnte nur am ersten Tag Stuhl gesammelt werden.

3.2.1.1 Differenzierung der radioaktiven Verbindungen im Harn nach oraler Verabreichung von Glidanil-Natrium

Die radioaktiven Verbindungen im Harn waren zu ca. 95 % ohne vorherige Hydrolyse mit Essigester extrahierbar. Sie lagen demnach fast ausschließlich in nicht konjugierter Form vor. Die nach der Essigesterextraktion in der Wasserphase verbliebenen radioaktiven Verbindungen waren nach Kellie (104) quantitativ extrahierbar. Bei den nach Kellie extrahierten Verbindungen handelte es sich aufgrund des chromatographischen Verhaltens im System I zu etwa 30 % um hochpolare Metabolite, die in der Fraktion der frei extrahierbaren Verbindungen nicht nachweisbar waren. Die restlichen Metabolite der Wasserphase lagen nach Dünnschichtchromatographie im System I im R_f -Bereich der bereits beschriebenen radioaktiven Verbindungen. Wegen der geringen Menge der nicht frei extrahierbaren radioaktiven Verbindungen wurden keine weiteren Versuche zu ihrer Identifikation durchgeführt.

Im Essigesterextrakt waren chromatographisch im DC-System I 4 Metabolite nachweisbar. Abb. 7 zeigt als Beispiel die Verteilung der Radioaktivität nach dünnschichtchromatographischer Differenzierung.

Im Bereich des bei der Plasmaanalytik mit II bezeichneten Metaboliten waren im Harn nach chromatographischer Differenzierung zwei Metabolite (IIa, IIb) nachweisbar.

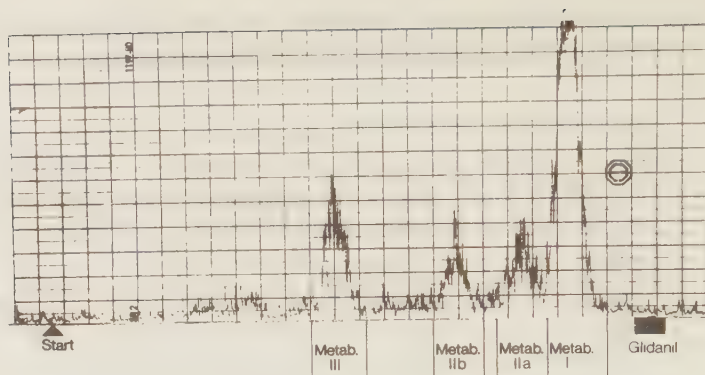


Abb. 7: Scannerdiagramm eines Harnextraktes nach dünnschichtchromatographischer Differenzierung (Proband Br).

In Tab. 3 ist die Verteilung der $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn auf die Metabolite des Glidanils nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium angegeben.

		Prob. Be		Prob. Br.			Prob. Ru		
Stunden nach Verabreichung		0-24	24-48	0-12	12-24	24-48	0-12	12-24	24-48
^3H -Aktivität in Prozent der Eingabe	Metab. I	2,5	2,9	6,2	5,3	2,1	1,9	4,1	2,0
	IIa	0,4	0,8	0,7	1,2	0,4	0,7	1,7	0,8
	IIb	0,6	0,8	0,6	1,1	0,4	0,9	1,5	0,9
	III	1,1	1,3	0,8	3,0	0,6	0,6	1,4	1,1
Prozentuale Verteilung der ^3H -Aktivität	Metab. I	55	50	74	50	58	47	47	41
	IIa	8	14	8	11	12	17	19	17
	IIb	14	14	7	10	12	23	17	18
	III	24	22	9	28	17	14	16	23

Tab. 3

Tab. 3: Radioaktive Metabolite im Harn nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na in Prozent der Eingabe sowie ihre prozentuale Verteilung nach chromatographischer Differenzierung.

Nach oraler Glidanil-Na-Verabreichung entfallen auf den Metaboliten I etwa 50-70 % der Gesamtradioaktivität im Harn.

3.2.2

Gesamtradioaktivität in Harn und Stuhl nach intravenöser Verabreichung von Glidanil-Natrium

Die Radioaktivität in Harn und Stuhl wurde bis 48 Std. nach der intravenösen Injektion von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium bestimmt.

Abb. 8 zeigt die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn.

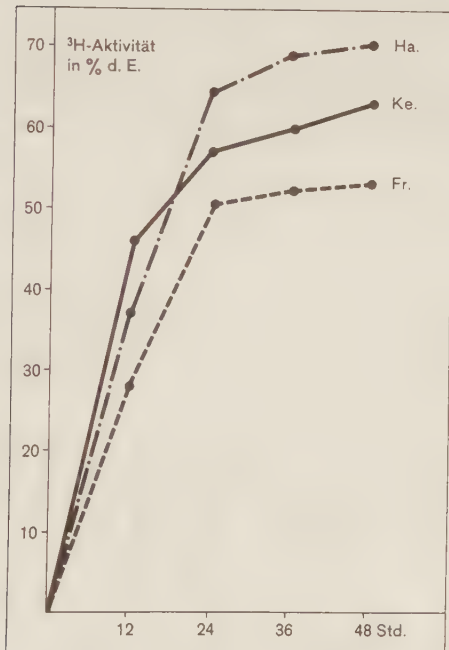


Abb. 8: Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Harn der Probanden Fr, Ha und Ke nach intravenöser Injektion von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

In Tab. 4 ist die Elimination der $[^3\text{H}]$ -Aktivität über Harn und Stuhl nach intravenöser Injektion von $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium wiedergegeben.

Zeit nach Verabreichung in Std.	^3H -Aktivität in % der Eingabe					
	Prob. Fr		Prob. Ha		Prob. Ke	
	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl	Harn	Stuhl
0 - 12	28.2	32.8	27.9	25.4	45.5	20.3
12 - 24	22.3		36.4		11.2	
24 - 36	1.9	—	4.6	—	3.5	2.2
36 - 48	0.6		1.4		1.4	
0 - 48	53.0	32.8	70.3	25.4	61.6	22.5
Harn + Stuhl	85.8		95,7		84.1	
— : kein Stuhl						

Tab. 4

Tab. 4: $[^3\text{H}]$ -Aktivität in Harn und Stuhl nach intravenöser Verabreichung von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

Nach intravenöser Verabreichung von 6.1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium wurden nach Tab. 4 in 48 Std. 53-70 % der Eingabe mit dem Harn ausgeschieden, mit dem Stuhl 23-33 %.

BLUTZUCKER, PLASMAINSULIN UND FREIE FETTSÄUREN IM SERUM GESUNDER PROBANDEN NACH ORALER BZW. INTRAVENÖSER VERAB- REICHUNG VON GLIDANIL-NATRIUM

Wirkung von Glidanil-Natrium nach oraler Verabreichung

Drei gesunde Probanden (Ni ♂, Qu ♀ und We ♀) erhielten oral 10 mg [^3H]-Glidanil-Natrium in Gelatinekapseln. Neben dem Blutzucker wurden die freien Fettsäuren im Serum und immunologisch das Plasmainsulin bestimmt. Außer der Gesamt- ^3H -Aktivität wurde nach chromatographischer Differenzierung das unveränderte Glidanil im Plasma bestimmt. Die Ergebnisse sind in den Abb. 9a-c wiedergegeben.

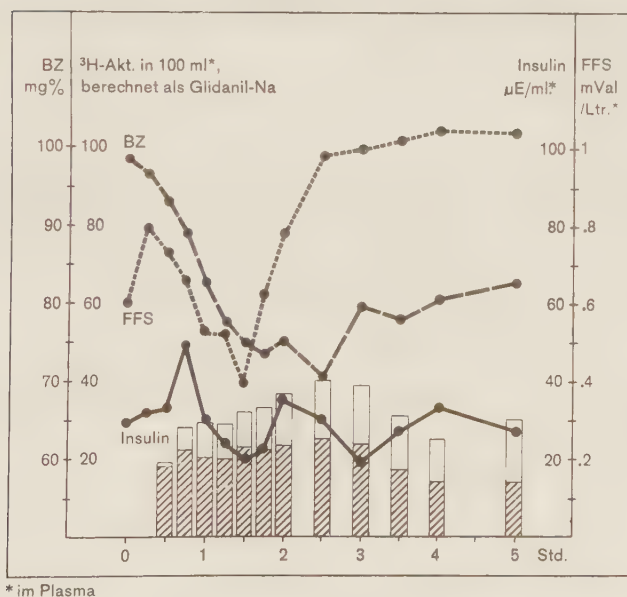


Abb. 9a (N1)

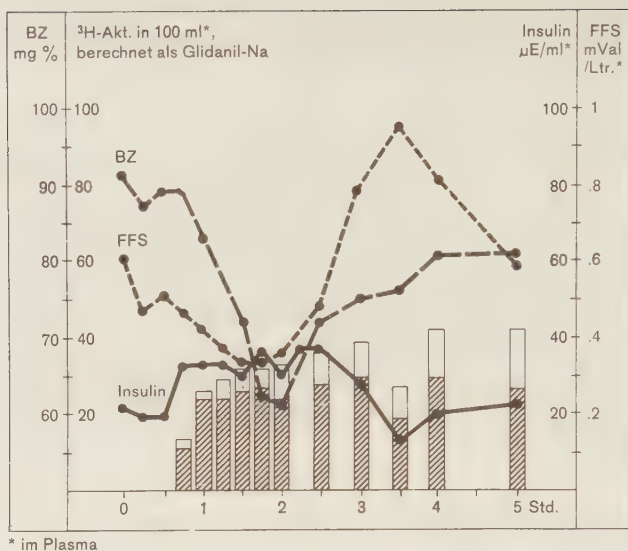


Abb. 9b (Qu)

Abb. 9a - b: Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität und unverändertes Glidanil im Plasma sowie Blutzucker, Plasmainsulin und freie Fettsäuren im Serum nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

-  : Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität
-  : unveränderte Verbindung
-  : Blutzucker
-  : Insulin
-  : freie Fettsäuren

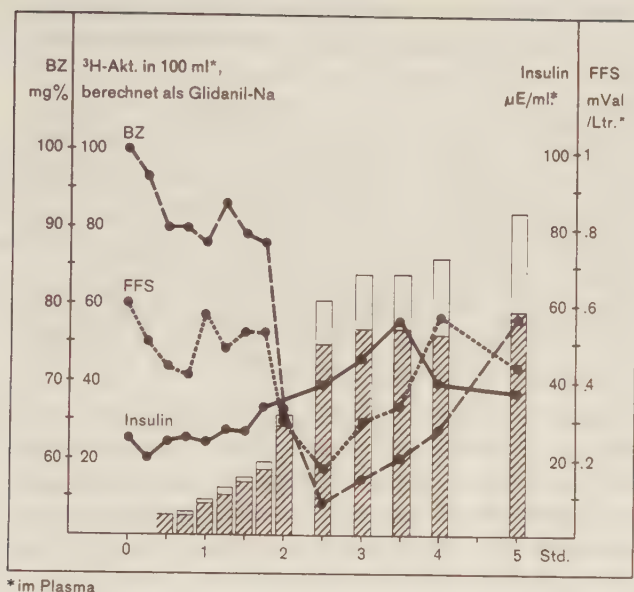


Abb. 9c (We)

Abb. 9c : Gesamt- $[\text{}^3\text{H}]$ -Aktivität und unverändertes Glidanil im Plasma sowie Blutzucker, Plasmainsulin und freie Fettsäuren im Serum nach oraler Verabreichung von 10 mg $[\text{}^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

-  : Gesamt- $[\text{}^3\text{H}]$ -Aktivität
-  : unveränderte Verbindung
-  : Blutzucker
-  : Insulin
-  : freie Fettsäuren

Bei den Probanden N1 und Qu stellte sich innerhalb der ersten Stunde nach oraler Verabreichung von 10 mg Glidanil-Natrium eine Konzentration von etwa $20 \mu\text{g}$ Glidanil-Na pro 100 ml Plasma ein. Diese Konzentration führt zu einer Stimulation der Insulinsekretion, gemessen an der Erhöhung der peripheren Insulinkonzentration. Bei Proband We war die Glidanil-Resorption verzögert, entsprechend trat die Erhöhung des Plasmainsulins verzögert ein. Das Blutzuckerminimum lag 2 bis 3 Stunden nach der oralen Glidanil-Verabreichung und betrug etwa 55 bis 70 % des jeweiligen Blutzucker-Ausgangswertes.

Dem Insulinanstieg im Plasma und dem Blutzuckerabfall entsprechend nahm die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum zunächst ab. Die freien Fettsäuren stiegen dann aber - wahrscheinlich als Folge der Hypoglykämie - auf Konzentrationen an, die über den Ausgangswerten lagen.

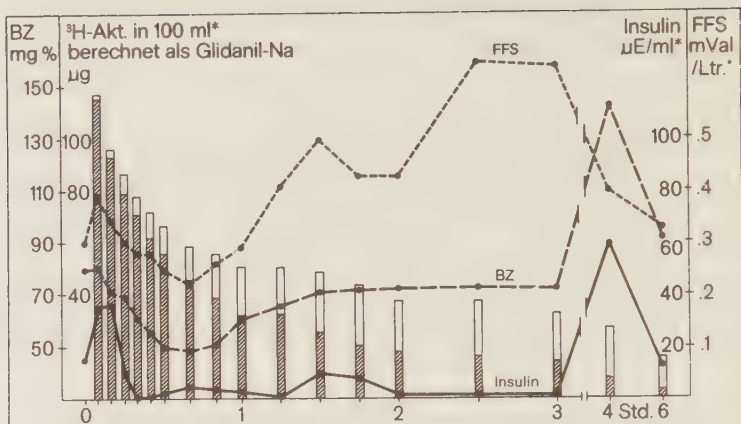
3.3.2

Wirkung von Glidanil-Natrium nach intravenöser Verabreichung

Wie bereits unter 3.1.2 beschrieben, erhielten drei gesunde männliche Probanden intravenös 6.1 mg [^3H] - Glidanil-Na, gelöst in 5 ml physiol. Kochsalzlösung. Die Abb. 10a-c zeigen neben der Gesamt- [^3H] -Aktivität im Plasma den Verlauf des Blutzuckers sowie des Plasmainsulins und der freien Fettsäuren im Serum in Korrelation zur Konzentration des unveränderten Glidanils im Plasma.

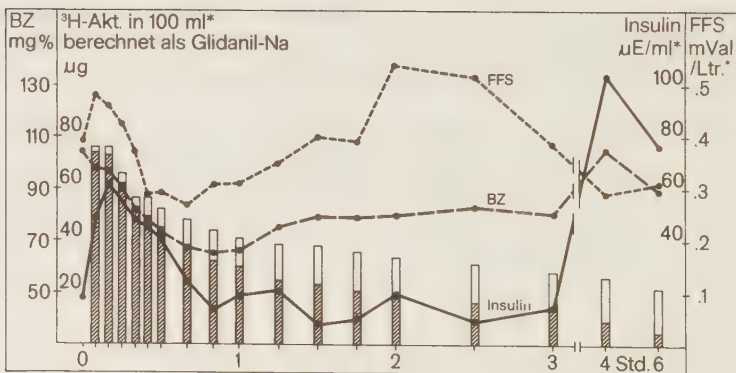
Die Injektion des Antidiabetikums führte zu einem akuten Anstieg der Insulinkonzentration im Plasma, die aber bei noch hohem Wirkstoffspiegel im Plasma innerhalb der ersten Stunde wieder den Ausgangswert erreichte. Der relativ geringe Anstieg der Insulinkonzentration im peripheren Plasma führte zu einer ausgeprägten Senkung des Blutzuckers und der freien Fettsäuren im Serum. Die Fettsäuren erreichten etwa eine Stunde nach der Glidanil-Injektion wieder den Ausgangswert, stiegen dann aber für mehrere Stunden deutlich über den Ausgangswert hinaus an.

Drei Stunden nach der Glidanil-Injektion erhielten die Probanden ein Probefrühstück, das zu dem erwarteten stärkeren Anstieg der Insulinkonzentration im Plasma und entsprechendem Abfall der freien Fettsäuren führte.



* im Plasma

Abb. 10a (Fr)



* im Plasma

Abb. 10b (Ha)

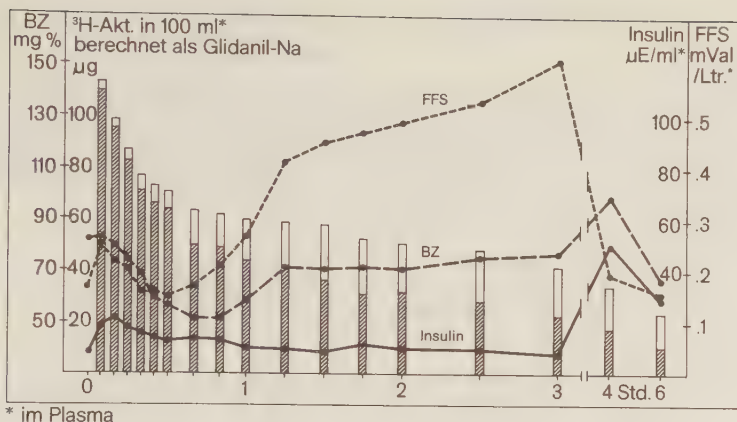


Abb. 10c (Ke)

Abb. 10a - c: Gesamt- $[\text{}^3\text{H}]$ -Aktivität und unverändertes Glidanil im Plasma sowie Blutzucker, Plasmainsulin und freie Fettsäuren im Serum nach intravenöser Verabreichung von 6.1 mg $[\text{}^3\text{H}]$ -Glidanil-Natrium.

-  : Gesamt- $[\text{}^3\text{H}]$ -Aktivität
-  : unveränderte Verbindung
-  : Blutzucker
-  : Insulin
-  : freie Fettsäuren

D I S K U S S I O N

Nach oraler Verabreichung von 10 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na in Gelatine-Kapseln stellte sich nach 2 - 4 Stunden - berechnet als Glidanil-Na - die maximale $[^3\text{H}]$ -Konzentration von 60 - 90 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma ein (Abb. 1a - c).

Nach Erreichen des maximalen Plasmaspiegels fiel die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Konzentration in etwa 4 - 7 Std. um ca. 50 % ab.

24 Stunden nach oraler Gabe von $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na waren im Mittel noch etwa 20 % der maximalen $[^3\text{H}]$ -Konzentration im Plasma nachweisbar.

Die chromatographische Differenzierung der $[^3\text{H}]$ -markierten Verbindungen im Plasma zeigte, daß die Konzentration des unveränderten Glidanils viel rascher abnahm als die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Konzentration.

2 Std. nach der oralen Applikation entfielen 70 - 90 % der $[^3\text{H}]$ -Aktivität auf unverändertes Glidanil. 4 Stunden nach der Medikation fiel der prozentuale Anteil der unveränderten Verbindung (Abb. 2a - c) auf 30 - 40 % ab und betrug nach 10 Std. nur noch 10 %. Nach der oralen $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na-Applikation verschob sich die prozentuale Verteilung der $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma zugunsten des Hauptmetaboliten (I). Von der 3. - 4. Stunde an p.a. überwog dieser Metabolit, so daß nach 4 Std. etwa 60 % der Radioaktivität im Plasma dem Metaboliten I entsprachen. Am 2., 3. und 4. Tag nach der oralen Glidanil-Verabreichung verschob sich die prozentuale Verteilung der radioaktiven Verbindungen im Plasma zunehmend zugunsten des Metaboliten III, so daß 72 - 96 Std. nach der Applikation ca. 40 % der Radioaktivität im Plasma auf den Metaboliten III entfielen. Absolut war die Menge des Metaboliten III im Plasma nur sehr gering.

Sie betrug 72 Stunden nach der Verabreichung nur ca. 1 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma.

Die Metaboliten IIa und IIb traten gegenüber dem Metaboliten III in noch sehr viel geringerer Menge auf. Bei der chromatographischen Differenzierung der radioaktiven Verbindungen im Plasma trennten sich die Metabolite IIa und IIb nur schlecht und wurden daher als Metabolit II gemeinsam quantitativ bestimmt.

Nach den Ergebnissen der Plasmaanalytik wird Glidanil rasch metabolisiert, so daß die unveränderte Verbindung im Plasma nach Erreichen der maximalen Konzentration bereits in 1 - 2 Std. um 50 % abnimmt.

Nach intravenöser Injektion von 6,1 mg $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na nahm die Gesamt- $[^3\text{H}]$ -Aktivität im Plasma in den ersten 6 Stunden mit einer Halbwertszeit von etwa 3 - 5 Std. ab. Die Halbwertszeit der unveränderten Verbindung betrug in dieser Zeit dagegen nur etwa 2 - 2 $\frac{1}{2}$ Std.

Wie nach oraler Verabreichung war im Plasma als Hauptmetabolit des Glidanils die Hydroxyisobutylverbindung (Metabolit I) vorhanden (Abb. 4a - c).

6 Stunden nach i.v.-Injektion fielen etwa 40 - 70 % der $[^3\text{H}]$ -Aktivität auf den Metaboliten I und nur noch ca. 20 - 40 % auf unverändertes Glidanil.

Die Halbwertszeit des unveränderten Glidanils ist im Vergleich zu anderen bereits therapeutisch eingesetzten oralen Antidiabetika überraschend kurz (s. Tafel 5). Bestimmend für die Halbwertszeit sind im wesentlichen der Stoffwechsel der betreffenden Verbindung und die Elimination aus dem Körper. Im Vergleich zu anderen oralen Antidiabetika (s. Tafel 5) ist das Verteilungsvolumen des Glidanils mit ca. 100 Liter überraschend groß (Tab. 1).

Die in vitro ermittelte Bindung des Glidanils an Humanplasma lag bis zu einer Konzentration von 3,2 mg Glidanil/100 ml bei 99 % und entspricht damit der Eiweiß-

bindung des Glibenclamid, liegt aber höher als die für Carbutamid, Tolbutamid, Chlorpropamid u. Glymidin bestimmten Werte (s. Tafel 5). Man darf unterstellen, daß Albumine für die Eiweißbindung oraler Antidiabetika im Plasma verantwortlich sind. Unter dieser Annahme werden bei einem therapeutischen Plasmaspiegel von etwa 100 µg Glidanil/100 ml Plasma ca. 0,005 µ Mol Glidanil/ 1 µ Mol Albumin gebunden. Unter diesen Voraussetzungen entfällt auf 200 Moleküle Albumin nur 1 Molekül Glidanil.

Es fällt auf, daß sich die beiden oralen Antidiabetika Glibenclamid und Glidanil gegenüber den anderen Verbindungen durch die starke Bindung an Humanplasma und die wesentlich stärkere biologische Wirkung auszeichnen. Völlig offen ist noch, ob ein Zusammenhang zwischen der Bindung oraler Antidiabetika an Proteine und ihrer Fähigkeit, die Insulinsekretion zu stimulieren, besteht.

Nach oraler Verabreichung von 10 mg Glidanil-Na werden in 96 Std. mit dem Stuhl ca. 80 - 90 %, mit dem Harn ca. 10 - 20 % eliminiert. Im Gegensatz dazu werden nach i.v. Verabreichung von 6,1 mg Glidanil-Na in 48 Std. mit dem Harn bis ca. 70 %, mit dem Stuhl bis ca. 30 % ausgeschieden.

Diese Gegenüberstellung zeigt, daß die nach oraler Applikation mit dem Stuhl eliminierte Substanz zum Teil auf nicht resorbiertes und zum Teil auf das mit der Galle eliminierte Glidanil bzw. dessen Metabolite entfällt.

Aus den in Tab. 2 und 3 wiedergegebenen Daten läßt sich der nach oraler Glidanil-Na-Verabreichung nicht resorbierte Anteil des Wirkstoffes angenähert berechnen. Nach der intravenösen Injektion von [^3H]-Glidanil-Na wurden im Mittel ca. 70 % der eliminierten [^3H]-Aktivität mit dem Urin, ca. 30 % mit dem Stuhl ausgeschieden (Tab. 3)

Bei oraler Verabreichung des $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Na (Tab. 2) wurden im Mittel mit dem Harn nur ca. 20 %, mit dem Stuhl ca. 80 % der $[^3\text{H}]$ -Aktivität ausgeschieden. Wenn man unterstellt, daß bei oraler Verabreichung der resorbierte Anteil, d.h. der in den Kreislauf gelangte Anteil in gleichem Verhältnis auf Harn und Stuhl verteilt wird wie nach intravenöser Applikation, dann gilt:

$$\frac{\frac{20}{x}}{x} = \frac{\frac{70}{30}}{9}$$

Bei oraler Verabreichung von Glidanil-Na würde sich der resorbierte Anteil so auf Harn und Stuhl verteilen, daß ca. 20 % des resorbierten Wirkstoffes über den Harn, ca. 10 % über den Stuhl eliminiert würden.

In den p.o.-Versuchen wurden im Mittel insgesamt 80 % des verabreichten Wirkstoffes mit dem Stuhl ausgeschieden. 10 % der applizierten Wirkstoffmenge wurden nach Resorption wieder über die Galle ausgeschieden, so daß ca. 70 % des oral verabreichten Glidanil-Na nicht resorbiert wurden. Von den im Stuhl nachweisbaren 80 % des oral verabreichten Glidanil-Na dürften demnach 70 % dem nicht resorbierten Glidanil-Na entsprechen, 10 % dem nach Resorption über die Galle eliminierten Wirkstoff.

Die nach oraler Verabreichung von $[^3\text{H}]$ -markiertem Glidanil-Na im Harn ausgeschiedenen radioaktiven Verbindungen waren mit Essigester extrahierbar, d.h. sie lagen in nicht konjugierter Form vor. Bei der chromatographischen Differenzierung der radioaktiven Verbindung im Harn war kein unverändertes Glidanil nachweisbar. Da zumindest in der ersten Stunde nach der oralen $[^3\text{H}]$ -Glidanil-Verabreichung der größte Teil der Radioaktivität im Plasma unverändertem Glidanil entsprach, spricht die fehlende Ausscheidung mit dem Harn dafür, daß diese Verbindung nach glomerulärer Filtration tubulär quantitativ rückresorbiert wird.

Dies ist verständlich, wenn man berücksichtigt, daß Glidanil eine sehr schwache Säure und in undissoziierter Form gut lipoidlöslich ist.

Die mit dem Harn eliminierten radioaktiven Verbindungen entsprachen zu etwa 40 - 70 % dem Metaboliten I. Die restliche Radioaktivität verteilte sich zu etwa gleichen Teilen auf die Metabolite II a, II b und III (s. Abb. 7 u. Tab. 3).

Nach Erarbeitung der vorstehend diskutierten Ergebnisse stellte sich die Frage nach der Korrelation des Glidanil-Plasmaspiegels mit dem Blutzucker sowie der Konzentration von Insulin und der freien Fettsäuren im Plasma bzw. im Serum.

Nach oraler Applikation der therapeutischen Dosis von 10 mg Glidanil-Na stellte sich innerhalb der ersten Stunde eine Konzentration von 10 - 20 µg unverändertem Glidanil in 100 ml Plasma ein. Diese Glidanil-Konzentration im peripheren Plasma führte zu einem Anstieg der immunologisch gemessenen Insulinkonzentration im Plasma und parallel dazu zu einem Abfall des Blutzuckers und der freien Fettsäuren (Abb. 9a u. 9b).

Bei einem Probanden war die Resorption des Glidanils verzögert, so daß erst in der 2. Stunde p.a. eine Glidanil-Konzentration von 10 - 20 µg erreicht wurde (Abb. 9c). Entsprechend dem verzögerten Anstieg der Glidanil-Konzentration im Plasma kam es auch zu einem verspäteten Wirkungseintritt, gemessen am Anstieg des Insulins und des Abfalls des Blutzuckers und der freien Fettsäuren. Dem nur geringfügigen Anstieg der Insulinkonzentration im peripheren Plasma ist eine starke Blutzuckersenkung korreliert. Wie in früheren Untersuchungen gezeigt wurde (53), ist dieser Blutzuckerabfall nicht mit einer peripheren Insulinwirkung im Sinne einer erhöhten Glukoseverteilung und -verwertung zu erklären. Bei exogener Insulinzufuhr sind nämlich

- zur Erreichung einer entsprechenden Blutzuckersenkung - wesentlich höhere Insulinkonzentrationen im Plasma erforderlich. Die nach oraler Glidanil-Verabreichung beobachtete starke Blutzuckersenkung bei nur geringfügiger Erhöhung des peripheren Insulinspiegels ist vielmehr als Hemmung des Glukose-output der Leber durch das von Glidanil im Pankreas freigesetzte und über die Pfortader zur Leber gelangte Insulin zu verstehen.

Nach oraler Verabreichung von 10 mg Glidanil-Na wurde der Blutzuckerspiegel der gesunden Probanden 2 - 3 Std, nach der Verabreichung maximal gesenkt, um danach bis zu 5 Std. wieder anzusteigen ohne aber den Ausgangswert in dieser Zeit wieder zu erreichen. Der parallel zur Erhöhung der peripheren Insulinkonzentration beobachtete Abfall der freien Fettsäuren im Serum ist aufgrund der lipolysehemmenden Wirkung des Insulins verständlich. Der starke Anstieg der freien Fettsäuren nach Erreichen des Minimums dürfte ein Ausdruck der durch die Hypoglykämie ausgelösten Gegenregulationsmechanismen sein, wobei vor allem an eine hypoglykämiebedingte Ausschüttung von Adrenalin, STH, Glukagon und Corticoiden zu denken wäre. Die Ursache des über den Ausgangswert hinausgehenden Anstiegs der freien Fettsäuren wird in weiteren Untersuchungen bearbeitet. Die nach i.v. Injektion von Glidanil-Na erhaltenen Werte entsprachen im Prinzip den Befunden nach oraler Applikation (Abb. 10 a, b, c). Entsprechend früheren Ergebnissen mit anderen oralen Antidiabetika kommt es nach oraler und i.v. Glidanil-Verabreichung nur zu einer relativ kurzfristigen Erhöhung des peripheren Insulinspiegels. Nach den jetzt vorliegenden Untersuchungen zur Wirkung oraler Antidiabetika am isoliert perfundierten Pankreas der Ratte (96,97,98) und des Hamsters (100) ist dieser Befund verständlich, da die oralen Antidiabetika auch bei der Pankreasperfusion nur zu einem kurzfristigen Anstieg der Insulinkonzentration im Perfusionsmedium führen; dieses Insulin

entspricht dem in der β -Zelle granulär gespeicherten direkt mobilisierbaren Insulin-pool. Bei kontinuierlicher Durchströmung des Pankreas mit oralen Antidiabetika kann sich dieser Pool nicht mehr auffüllen. Erst wenn die Perfusion mit einem Antidiabetikum durch eine medikamentfreie "Resting-Phase" für 10 - 15 Min. unterbrochen wird, füllt sich jeweils der direkt mobilisierbare Insulin-pool wieder auf. Dies führt dann zu einer periodischen Insulinausschüttung.

Die vorstehend diskutierten Befunde zur Wirkung des Glidanils bei gesunden Probanden erlauben natürlich noch keine verbindlichen Rückschlüsse auf die Wirkung beim Altersdiabetes. Wesentlich für die Wirkung beim Diabetik ist einmal die direkte Stimulation der Insulinsekretion durch das Antidiabetikum, zum anderen die Verbesserung der Ansprechbarkeit der β -Zelle auf einen Glukosereiz in Gegenwart des Antidiabetikums.

Unter dieser Voraussetzung muß man fordern, daß bei einmaliger morgendlicher Gabe des Antidiabetikums über den Tag, d.h. für mindestens 10 - 12 Std., ein Wirkspiegel des Antidiabetikums bzw. seiner biologisch noch wirksamen Metaboliten im Plasma aufgebaut wird.

Nach bisher noch unveröffentlichten Befunden wirkt der Hauptmetabolit (I) im Plasma noch blutzuckersenkend, wenn auch etwas geringer als die Ausgangsverbindung Glidanil. Wenn man Glidanil und den Metaboliten I zusammenfasst, dann besteht 10 Std. nach einer einmaligen Applikation von 10 mg Glidanil-Na noch ein Plasmaspiegel von etwa 20 - 30 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob der sich nach einmaliger Verabreichung von 10 mg über 10 Std. einstellende Plasmaspiegel an Glidani bei Altersdiabetikern verschiedenen Schweregrades zur Normalisierung bzw. Verbesserung der Stoffwechsellage ausreicht. In den bisher vorliegenden klinischen Untersuchungen war es möglich, den größten Teil der behandelten Altersdiabetiker mit einer einmaligen morgendlichen

Gabe von 10 - 20 mg Glidanil-Na befriedigend einzustellen.

Die rasche Elimination des Glidanils und seiner Metabolite über Harn und Stuhl und der ihr entsprechende rasche Abfall des Plasmaspiegels sprechen dafür, daß bei einer Langzeittherapie mit Glidanil-Na eine Kumulation nicht zu erwarten ist. In noch unveröffentlichten Untersuchungen von H. KOLB u. Mitarb. wurde tierexperimentell gezeigt, daß sich bei täglicher oraler Verabreichung von Glidanil-Na bereits nach 2 - 3 Tagen, gemessen an der Plasmakonzentration, ein "steady-state" einstellt und daß auch eine vierwöchige tägliche Applikation von radioaktivmarkiertem Glidanil-Na nicht zur Kumulation führt. Diese Untersuchungsergebnisse sind erwähnenswert im Hinblick auf die Gefahr hypoglykämischer Reaktionen bei stark kumulierenden oralen Antidiabetika.

Die weitere klinische Prüfung des Glidanil-Na wird erst zeigen, ob es über die gegenüber den "klassischen" oralen Antidiabetika sehr starke Verringerung der therapeutischen Dosis von 1000 auf etwa 10 mg hinaus möglich sein wird, den Anteil der oral noch einstellbaren Altersdiabetiker zu erweitern. Selbst wenn dies nicht möglich sein sollte, dürfte die Therapie mit Glidanil-Na im Vergleich z.B. zum Glymidin-Na Vorteile bieten:

Erstens ist für den Patienten die Einnahme einer sehr kleinen Tablette subjektiv angenehmer, zumal alten Patienten die Einnahme großer Tabletten Schwierigkeiten bereitet.

Zweitens ist die Beanspruchung des Organismus im Hinblick auf die drogenabbauenden Enzyme der Leber und der Ausscheidungsfunktion der Niere bei Verbindungen wie Glymidin-Na wesentlich höher. Glymidin-Na als Beispiel für ein klassisches orales Antidiabetikum wird bei einer therapeutischen Dosis von 1000 mg/die zu etwa 100 % resorbiert und praktisch nur in metabolisierter Form

im Harn eliminiert (53). Im Gegensatz dazu kommen bei einer Glidanil-Therapie von 10 mg/die nach den vorstehenden Befunden nur etwa 3 mg zur Resorption. Drittens bietet Glidanil-Na wesentlich bessere Möglichkeiten zur Kombinationstherapie mit einem Biguanid, die heute von zahlreichen Diabetologen bei schwer einstellbarem Altersdiabetes bevorzugt wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Stoffwechsel und die Pharmakokinetik von [^3H]-Glidanil-Natrium an drei Diabetikern und sechs gesunden Probanden nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung untersucht. Bei den gesunden Probanden wurde außerdem nach oraler und intravenöser Glidanil-Natrium-Verabreichung der Wirkstoffspiegel im Plasma mit dem Blutzuckerverlauf sowie der Konzentration des Insulins und der freien Fettsäuren im Plasma bzw. im Serum korreliert.

Nach oraler Verabreichung von 10 mg [^3H]-Glidanil-Natrium stellt sich 2 - 4 Std. nach der Einnahme die maximale [^3H]-Konzentration im Plasma ein, die - berechnet als μg Glidanil-Na - 60-90 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ entspricht.

Glidanil wird rasch metabolisiert. Als Hauptmetabolit tritt im Plasma und im Harn der tertiäre Isobutylalkohol des Glidanils (Metabolit I) auf. Dieser Metabolit wirkt noch blutzuckersenkend, ist aber etwas weniger wirksam als die Ausgangsverbindung. Die Halbwertszeit des unveränderten Glidanils beträgt nach intravenöser Injektion in den ersten 6 Stunden etwa 2 - 2 1/2 Std. Glidanil liegt im Humanplasma zu mehr als 99 % in proteingebundener Form vor. Bei therapeutischem Plasmaspiegel entfällt auf ca. 200 Moleküle Albumin nur ein Molekül Glidanil.

Nach oraler Glidanil-Natrium-Verabreichung werden im Mittel ca. 20% der Eingabe mit dem Harn, ca. 80 % mit dem Stuhl eliminiert.

Nach intravenöser Injektion des Glidanil-Natriums werden im Mittel ca. 70 % der Eingabe mit dem Harn, ca. 30 % mit dem Stuhl ausgeschieden. Bei oraler Verabreichung von Glidanil-Natrium werden nur ca. 30 % des applizierten Wirkstoffes resorbiert.

Glidanil wird nach oraler und intravenöser Verabreichung rasch über Harn und Stuhl eliminiert, so daß eine Kumulation mit der Gefahr hypoglykämischer Reaktionen nicht zu erwarten ist.

Glidanil-Natrium führt bereits bei einer Plasmakonzentration von ca. 20 µg/100 ml zu einer Insulinausschüttung und als Folge davon zu einem Abfall des Blutzuckers und der freien Fettsäuren im Serum.

Literaturverzeichnis

1. Ruiz, C.L., Silva, L.L., Libenson, L.:
Rev.Soc.Argent.Biol. 6, 134 (1930)
2. Savagnone, L.:
Settim.Med. 29, 1005 (1941)
3. Janbon, M., Chaptal, J., Vendel, A., Schaap, J.:
Montpellier Med. 85, 441 (1942)
4. Loubatières, A.:
Thèse Doctorat Sci.naturelles 86, Montpellier 1946
5. Franke, H., Fuchs, J.:
Dtsch.Med.Wochenschr. 80, 1449 (1955)
6. Stötter, G.:
Diabetiker 6, 157 (1956)
7. Creutzfeldt, W., Böttcher, K.:
Dtsch.Med.Wochenschr. 81, 896 (1956)
8. Kramer, M., Hecht, G., Langecker, H., Harwart, A.,
Richter, K.-D., Gloxhuber, Ch.:
Arzneim.-Forsch. 14, 373-412 (1964)
9. Gerhards, E., Gibian, H., Kolb, K.M.:
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 14, 394-402 (1964)
10. Loubatières, A.:
Proc.I.Intern.Pharmacol.Meet., Stockholm 1961,
Pergamon Press 1, 47 (1962)

11. Heilmeyer, L., Schoen, R., de Rudder, B.:
"Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde"
Springer-Verlag 15, (1960)
12. Randle, P.J.:
In: Pincus, G. (ed.), Thimann, K.V., Astwood, E.B.
"The Hormones" Vol. IV, p. 481
Academic Press 1964
13. Field, J.B.:
Metabolism 13, 407 (1964)
14. Bänder, A., Scholz, J.:
Dtsch.Med.Wochenschr. 81, 889 (1956)
15. Sirek, A., Sirek, O.V.:
Canad.med.Ass.J. 74, 960-962 (1956)
16. Campbell, J., Durban, G.D.:
Persönliche Mitteilung (1960)
17. Fritz, J.B. et al.:
Metabolism 5, 744-748 (1956)
18. Houssay, B.A., Penhos, J.C.:
Metabolism 5, 727-732 (1956)
19. Gordon, M.F. et al.:
Diabetes 6, 7-12 (1957)
20. Cox, R.W., Williams, R.H.:
Diabetes 5, 366-371 (1956)
21. Bänder, A.:
Proc.I International Meeting of Pharmacology (1962)

22. Loubatières, A.:
Arch.Int.Physiol. 54, 174 (1946)
23. Loubatieres, A. et al.:
C.R.Soc.Biol. 161, 1751 (1967)
24. Yalow, R.S., Black, H., Villazon, M., Berson, S.A.:
Diabetes 9, 356 (1960)
25. Coore, H.G., Randle, P.J.:
Biochem.J. 93, 66 (1964)
26. Bouman, P.R., Gaarenstroom, J.H.:
Metab.Clin.Exp. 10, 1095 (1961)
27. Weinges, J.A., Biro, G., Kettl, H., Mitzuno, M.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1467 (1969)
28. Lacy, P.E., Young, Fink:
Endocrinology 83, 1155-1161 (1968)
29. Löffler, G., Trautschold, J., Schweitzer, T.,
Lohmann, E.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1467-1469 (1969)
30. Donald, Curry, D., Bennet, L., Grodsky, G.:
Endocrinology 83, 572-584 (1968)
31. Loubatières, A., Mariani, M.M., Alric, R., Chaptal, J.,
Portal, A.:
C.R.Soc.Biol. 161, 2578 (1967)
32. Sutherland, E.W., Robinson, G.A., Butcher, R.W.:
Circulation 37, 279 (1968)

33. Sussman, K.E., Vaughan, G.D.:
Diabetes 16, 449 (1967)
34. Genuth, S., Lebovitz, H.:
Endocrinology 76, 1093 (1965)
35. Turtle, J.R., Kipnis, D.M.:
Biochem.Biophys.Res.Comm. 28, 797 (1967)
36. Martin, J.H., Gargliadino, J.J.:
Nature (London) 213, 630 (1967)
37. Malaisse, W., Malaisse-Lagae, F., McCraw, E.F.:
Diabetes 16, 643 (1967)
38. Kaneto, A., Kosaka, K., Nakao, K.:
Endocrinology 81, 783 (1967)
39. Porte, D.:
Diabetes 16, 150 (1967)
40. Malaisse, W., Malaisse-Lagae, F.:
J.Lab.Clin.Med. 72, 438 (1968)
41. Turtle, J.R., Littleton, G.K., Kipnis, D.M.:
Nature (London) 213, 727 (1967)
42. Lambert, A.E., Jeanrenaud, B., Renold, A.E.:
Lancet 1967/I, 819
43. Campell, J., Rastogi, K.S.:
Endocrinology 79, 830 (1966)
44. Lambert, A., Vecchio, D., Gonet, A., Jeanrenaud, B.,
Renold, A.E.:
In: Butterfield, W.J.H., (ed.), van Westerling, W.,
"Tolbutamide after 10 years"
Exc.Med.Found.No. 149, p. 61 (1967)

45. Bressler, R., Cordon, M.V., Brendle, K.:
Arch.Intern.Med. 123, 247 (1969)
46. de Devitiis, D.F., Giordano, O.F., Gallo, B.,
Jacono, A.:
Lancet 6, 749 (1968/I)
47. Losert, W., Senft, G., Sitt, R., Schultz, G.,
Kaes, H.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Exp.Pathol.Pharmakol. 253,
388 (1966)
48. Frerichs, H., Gerber, G., Creutzfeldt, W.:
Diabetologia 2, 259-276 (1966)
49. Huff, G., Losert, W., Sitt, R., Schultz, G.,
Hoffmann:
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Exp.Pathol.Pharmakol. 260,
309 (1968)
50. Brech, W.J., Kaes, H., Schlierf, G., Rohs, M.:
Klin.Wochenschr. 8, 449 (1968)
51. Losert, W., Rosenthal, K., Jahn, P., Sitt, R.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmakol. 266, 397 (1970)
52. Williams, R.H., Ensink, J.W.:
Diabetes 15, 623 (1966)
53. Gerhards, E., Nieuweboer, B., Gutsche, H.:
Arzneim.-Forsch. 18, 570-577 (1968)
54. Ernst, Z., Pfeiffer, F.:
Handbuch d.Diabetes mellitus, Pathophysiologie und
Klinik,
J.F.Lehmanns Verlag, München (1969) I

55. Creutzfeldt, W., Frerichs, H., Perings, E.:
Dtsch.Med.Wochenschr. 17, 856-860 (1968)
56. Mirsky, J.A., Gitelson, S.:
Ann.N.Y.Acad.Sci. 71, 103-111 (1957)
57. Berson, S.A., Yalow, R.S., Weisenfeld, S.,
Goldner, M.G., Volk, B.M.:
Diabetes 6, 54-60 (1957)
58. Recant, L., Fischer, G.L.:
Ann.N.Y.Acad.Sci. 71, 62-70 (1957)
59. Wick, A.N., Britton, B., Grabowski, R.:
Metabolism 5, 739-743 (1956)
60. Weaver, J.A., Prout, T.E., Scott, G.W., Asper, S.P.:
Brit.Med.J. 1958/I
61. Bolinger, R.E., Grady, H.J.:
Amer.J.Med.Sci. 233, 182-184 (1957)
62. Gerhards, E.:
Habilitationsschrift 1967
63. Thomas, R.C., Ideda, G.J.:
J.med.Chem. 2, 4 (1966)
64. Smith, D.L., Vecchio, T.J.,
Forist, A.A.:
Metabolism 14, 3 Part 1: 229-240 (1965)
65. Welles, J.S., Root, M.A., Anderson, R.C.:
Proc.Sec.Exp.Biol.Med. 101/4, 668-671 (1959)

66. Sheldon, J., Anderson, J., Stoner, B.:
Sc.London, England
Diabetes 14, 6: 362-367 (1965)
67. Wittenhagen, G., Mohnike, G., Langenbeck, W.:
Hoppe Seyler's Physiol.Chem. 316, 157-163 (1959)
68. Pfeiffer, E., Ditschuneit, M., Schöffling, K.:
Chemotherapia 2, 283 (1961)
69. Ferguson, B.D.:
Rieser, P., (ed.): "Insulin membranes and metabolism",
The Williams and Wilkens Company, Baltimore (1967)
Med.Clin.N.Amer. 49, 129 (1965)
- 70 Tegernsee Konferenz über das neue orale Antidiabetikum
Hb 419 27. - 29. Januar 1969
Farbwerke Hoechst AG
Boehringer Mannheim GmbH
71. Pfaff, W., Schöne, H.H.:
Arzneimittelforschung 19, 1445 (1969)
72. Sirek, O.V., Vigas, M., Niki, A., Niki, H., Sirek, A.:
Diabetologia 5, 207-210 (1969)
73. Loubatières, A..et al.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1354-1363 (1969)
- 74 Goberna, R., Fussgänger, R.D., Raptis, S.,
Pfeiffer, E.F.:
Tegernsee Konferenz über das neue orale Antidiabetikum
Hb 419 27. - 29. Januar 1969, S. 49
Farbwerke Hoechst AG
Boehringer Mannheim GmbH

75. Stork, H., Schmidt, F.H., Bänder, A., Pfaff, W.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1373-1378 (1969)
76. Faulhaber, J.-D., Ditschuneit, H., Ditschuneit, H.H.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1476-1478 (1969)
77. Achelis, J.D., Hardebeck, K.:
Dtsch.Med.Wochenschr., 1452-1455 (1955)
78. Root, M.A.:
Pharmacology 119, 468-478 (1957)
79. McDaniel, H. et al.:
J.Pharmacol.Exp.Ther. 167, No. 1, 91-97
80. Tagg, J., Yasuda, D.M., Tanabe, M.,
Chozo Mitoma:
Biochem.Pharmacol. 16, 143-153 (1967)
81. Brotherton et al.:
Chem.Pharmacol.Ther. 10, 14 (1969)
82. Grunwald, F.A.:
In: Burger, A. med. chemistry
3 Ed., Part II, Wiley Interscience
83. Gerhards, E., Kolb, K.H., Schulze, P.E.:
Arch.Pharmak. u. Exp.Path. 255, 200-220 (1966)
84. Gerhards, E.:
Arzneim.-Forsch. 18, 704-712 (1968)
85. Rupp, W., Christ, O., Heptner, W.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1428-1434 (1969)

86. Mohnike, G., Wittenhager G.:
Dtsch.Med.Wochenschr. 82, 1556-1557 (1957)
87. Soluson, Philip, Hennes, Allen R., Driscoll, Theda,
West, Kelly M.:
Ann.N.Y.Acad.Sci. 74, 459-472 (1958-59)
88. Madsen, S.Nistrup, Fog-Møller, F., Persson, J.:
European Journal of Pharmacology 13, 374-380 (1971)
North-Holland Publishing Company
89. Novak, E. et al.:
Kalamazoo, Michigan Medicine 68, No. 24, 1243-1245
December 1969
90. Beckett, G.A., Donovan, R.J.,
B.CHIR., New End Hospital Hampstead
Brit.J.Clin.Pract. 19, No. 5: May 1965
91. Weaver, J.A.:
Clinical Trials Journal, May 1966
92. Dulin, W.E., Oster, H.L., McMahon, F.G.:
The Society for Experimental Biology and Medicine 107,
245-248 (1961)
93. Kolb, K.H., Kramer, M., Schulze, P.E.:
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 14, 385-389
94. Schmidt, F.H., Stork, H., Bänder, A., Pfaff, W.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1369-1373 (1969)

95. Hajdú, P., Kohler, K.F., Schmidt, F.H.,
Spingler, H.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1381-1386 (1969)
96. Grodsky, G.M., Curry, D.L., Bennett, L.L.,
Rodrigo, J.J.:
Acta Diabet.Lat. 5, Suppl. 1, 140 (1968)
97. Loubatières, A.:
Acta Diabet.Lat. 5, Suppl. 1, 220 (1968)
98. Pfeiffer, E.F., Telib, M.:
Acta Diabet.Lat. 5, Suppl. 1, 30 (1968)
99. Gerhards, E. et al.:
unveröffentlicht
100. Gerhards, E.:
unveröffentlicht
101. Whitelock, Otto v.St.:
Ann.N.Y.Acad.Sci. 74, Art. 3, 459-477 (1959)
102. Neuhoff, V., Kiehl, F.:
Arzneim.-Forsch. 19, 1898-1899 (1969)
103. Duncombe, W.C.:
Biochem.J. 88, 7 (1963)
104. Kellie, A.E., Wade, A.P.:
Acta Endocrinology 23, 357 (1956)

D A N K S A G U N G

Herrn Privatdozent Dr. Dr. E. Gerhards danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und seine wertvollen Vorschläge, die zum Gelingen der Arbeit beitrugen.

Mein besonderer Dank gilt den Herren Hecker und Berger, die mir mit ihrer Kenntnis und großen Hilfsbereitschaft bei der praktischen Ausführung der Arbeit zur Seite standen.

Meinen Dank auch denen, die an der Fertigstellung des Manuskriptes und der graphischen Darstellungen der Arbeit mitwirkten.

Lebenslauf

Ich wurde in Dresden geboren.

Mit der mittleren Reife verließ ich 1934
die Höhere Mädchenschule, bestand 1945
als Exsterne das Abitur.

Nach 5 Semester Studium an der Universität
Leipzig legte ich 1948 das Physikum ab.

Vom Wintersemester 1948/49 bis Sommersemester
1951 studierte ich die klinischen Semester
an der Freien Universität Berlin.

Die Ärztliche Prüfung konnte ich zu diesem
Zeitpunkt durch eine schwere Krankheit nicht
absolvieren. Nachdem diese operativ 1965
behoben wurde, bestand ich am 15.2.1969 das
medizinische Staatsexamen.

Seit Juli 1971 bin ich approbierte Ärztin.

